

Diplomarbeit

Der Einfluss eines polyphenolreichen Saftes auf die autonome Regulation

*Teil I der Untersuchung der „vegetativen Aktivität“ in einer Interventionsstudie mit
gesunden, übergewichtigen und depressiven Probandinnen*

eingereicht von:

Romeo M. S. Riedler

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Otto Loewi Forschungszentrum: Lehrstuhl für Physiologie und

Pathophysiologie sowie Lehrstuhl für Immunologie

Unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr.phil. Maximilian Moser

Assoz. Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Mag.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ rer. nat. Sandra Holasek

Graz, 20.07.2022:

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 20.07.2022

Romeo Riedler eh.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich allen Menschen, die mich bei dieser Arbeit besonders unterstützt haben, meinen Dank aussprechen.

Ein besonderer Dank geht an Prof. Maximilian Moser, den Erstbetreuer dieser Arbeit, welcher meine Faszination an der Chronobiologie geweckt hat, sich für meine Fragen immer Zeit nahm und mir dabei viele inhaltliche Impulse gab. Danke auch für das zur Verfügung gestellte Bildmaterial.

Bei Frau Prof.ⁱⁿ Sandra Holasek bedanke ich mich für die Zweitbetreuung dieser Arbeit, das herzliche „Willkommen“, die HRV-Messungen in die ESAN II Studie zu integrieren, und die freie Hand in der Umsetzung dieser Nebenstudie, welche sie mir gewährte.

Vielen Dank an DDr. Vinzent Grote, der sich für meine vielen Fragen zur statistischen Analyse und Interpretation zur Verfügung stellte und mir damit wie ein Drittbetreuer der Arbeit eine unverzichtbare Hilfe war, ein Verständnis über die statistische Methodik zu entwickeln.

Danke an Frau MMag. Dr.ⁱⁿ Sonja Lackner, Für die konstruktive Zusammenarbeit bei der Studie und das Feedback zu Teilen meiner Arbeit.

Danke an meine Studienkollegin Dr.ⁱⁿ Iris Lindner für angenehme Zusammenarbeit und gemeinsame Durchführung der Messungen.

Danke an Laura Spielmann, die meine Arbeit gewissenhaft korrekturgelesen hat.

Zum Schluss noch vielen Dank an meine Eltern, welche mich in der Zeit meiner Diplomarbeit und während meines gesamten Studiums immer unterstützt haben.

Romeo Riedler, am 20.7.2022

Inhaltsverzeichnis

EINLEITUNG	1
Aronia, eine polyphenolreiche Frucht.....	1
Inhaltsstoffe und Metabolismus:.....	1
Oxidativer Stress und Antioxidantien:	2
Wirkung von Aronia:.....	4
Autonome Regulation	6
Vegetatives Nervensystem:	6
Vegetatives Nervensystem und Immunsystem	11
Mikrobiom- Darm- Vagus:	14
Oxidativer Stress und Vagus Nerv:.....	18
Stress:	20
Schlaf.....	26
Schlafarchitektur:.....	26
Melatonin:	29
Hypothesenbildung	33
Mögliche HRV-Parameter-Kostellationen bei einem Effekt:	34
METHODEN	35
Studiendesign.....	35
Ablauf und Parameter:.....	36
Tätigkeit im Rahmen der Diplomarbeit.....	39
Material.....	40
Herzratenvariabilität	41
Physiologische Grundlagen.....	41
Analyse der Messungen.....	44
Beispiele.....	53
Möglichkeiten und Grenzen der HRV Messungen.....	56
Statistik.....	57
ERGEBNISSE	59
Deskriptive Statistik: alle Parameter zu allen Messzeitpunkten	59
Generalisiertes Lineares Modell (GLM):.....	60
Diagramme.....	63
DISKUSSION	74
Methodische Diskussion	75
Diskussion der Ergebnisse	80
Ausblick	86
LITERATURVERZEICHNIS	92
ANHANG	i
Lebenslauf	i
Fragebögen und Tätigkeitsprotokoll	iv
Lizenzen für Abbildungen.....	viii

Abkürzungsverzeichnis

ROS	Radikale Oxidative Spezies
VNS	Vegetatives Nervensystem
ENS	Enterisches Nervensystem
ZNS	Zentrales Nervensystem
GI/ GIT	Gastrointestinal/ -trakt
HRVB	Herzratenvariabilitäts- Biofeedback
NV	Nervus vagus
MDA	Malondialdehyd
CCK	Cholezystochinin
NTS	Nucleus tractus solitarius
ZAN	Zentrales autonomes Netzwerk
PAG	Periaquäduktales Grau
EEZ	Enteroendokrine Zelle
MB	Mikrobiom
IBD	Irritable Bowl Disease
SCFA	Short chain fatty acids
LPA	Lipoprotein A
MAMPs	Microbial-associated molecular patterns
PAMPs	Pathogen associated molecular patterns
TLR	Toll- like- Rezeptor
EEZ	Enteroendokrine Zellen
PYY	Peptid YY
GLP-1	Glucagon-like-peptide-1
PAG	Periaquäduktales Höhlengrau
NTS	Nucleus tractus solitarii
CRF	Corticotropin releasing factor
HRV	Herzratenvariabilität
GLM	Generalisiertes lineares Modell
OS	Oxidativer Stress
MDA	Malondialdehyd
HPA	Hypophysal-Pituitary-Adrenal
BRAC	Basic rest activity cycle
REM	Rapid eye movement
NREM	Non-rapid-eye-movement
NSC	Nucleus suprachiasmaticus
WAI	Work ability index
LFP	Lungenfunktionsparameter
LTL	Lymphozyten-Telomer-Länge
logRSA	Dec. Logarithmus der respiratorischen Sinusarrhythmie
InLF, InHF, InTot	normaler Logarithmus des Nieder-, Hochfrequenzbandes, Total
SDNN	Standardabweichung der Herzschlagintervalle
VQ	Vegetativer Quotient
HR	Herzfrequenz
QPA	Puls-Atem-Quotient
SQ	Vegetativer Schlafquotient
ESA	Efferente sympathische Aktivität

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Darstellung der endogenen und exogenen Quellen von ROS.....	4
Abbildung 2 Parasympathikus und Sympathikus	7
Abbildung 3 -Zentral autonomes Netzwerk	10
Abbildung 4 Interaktion VNS und Immunsystem	12
Abbildung 5 "The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis"	15
Abbildung 6 Schema OS- Entzündung- VN	19
Abbildung 7 Diathese-Stress Modell 1	22
Abbildung 8 Diathese-Stress Modell 2	23
Abbildung 9 Schlafphasen	26
Abbildung 10 Aktivität des Vegetativums im Schlaf.....	27
Abbildung 11 Schlafstadien und EEG	28
Abbildung 12: kontinuierliches Lichtspektrum und kammförmiges Lichtspektrum	30
Abbildung 13: Das HRV Messgerät Quelle: Human Research Institut	40
Abbildung 14: Spektralanalyse der unterschiedlichen Rhythmen	43
Abbildung 15 Fourier-Transformation	44
Abbildung 16: Beispielhaftes Chronocardiogramm	46
Abbildung 17 Die Herzfrequenz	47
Abbildung 18: SDNN.....	48
Abbildung 19: Beanspruchung und Erholung.....	50
Abbildung 20: Puls-Atem-Quotient	52
Abbildung 21: CCG -keine Stressüberlastung.....	53
Abbildung 22: CCG -Burn-out Gefahr	54
Abbildung 23: Schlaf im CCG anhand einiger Beispiele.....	55
Abbildung 24: SDNN 24hMW	63
Abbildung 25: SDNN 24hMWDiff	63
Abbildung 26: lnLF 24hMW	64
Abbildung 27: lnLF 24hMWDiff	64
Abbildung 28: lnHF 24hMW	65
Abbildung 29: lnHF 24hMW Diff	65
Abbildung 30: lnTot 24hMW	66
Abbildung 31: lnTot 24hMW	66
Abbildung 32: SDNN Häufigkeit Diff 24hMW	67
Abbildung 33: lnLF Häufigkeit Diff 24hMW	67
Abbildung 34: lnHF Häufigkeit Diff 24hMW	68
Abbildung 35: lnTot Häufigkeit Diff 24hMW	68
Abbildung 36: Wach SDNN.....	69
Abbildung 37: Wach SDNN Diff	69
Abbildung 38: Wach lnLF.....	70
Abbildung 39: Wach lnLF Diff	70
Abbildung 40: Wach lnHF	71
Abbildung 41: Wach lnHF Diff	71
Abbildung 42: Wach lnTot.....	72
Abbildung 43: Wach lnTot Diff	72
Abbildung 44: Schlaf SDNN	73
Abbildung 45: Schlaf lnLF	73
Abbildung 46 Aroniasaft, VNS und Depression	91

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vertreter endogener und exogener Antioxidantien.....	3
Tabelle 2: Korrelation zwischen Vagus Tonus und oxidativer Resistenz.....	18
Tabelle 3: Messwiederholungen und Ausfälle	37
Tabelle 4: Dropouts	37
Tabelle 5: Erklärung Frequenzbereiche.....	50
Tabelle 6: Deskriptive Statistik	59
Tabelle 7: Univariate und Multivariate Analyse	61
Tabelle 8: QPA Schlaf- Wach	61
Tabelle 9: Niedrige univariate P-Werte.....	62
Tabelle 10: Multivariat interessante Parameter	62
Tabelle 11: Deskriptive Statistik Alter der Probandinnen	75

Zusammenfassung

Einführung:

Es wird eine gesunde Wirkung des polyphenolreichen Aroniasaftes auf das Mikrobiom, den oxidativen Zustand und das Immunsystem erwartet. Diese Systeme sind eng mit dem Vegetativen Nervensystem (VNS) verflochten. Können, durch Aroniasaft, Stressoren auf dieser Ebene reduziert werden, so wird eine Reaktion der VNS-Parameter, im Sinne gesteigerter Resilienz, erwartet. In dieser Pilotstudie wird ein solcher Effekt explorativ untersucht und darauf basierend das Vorgehen für Folgestudien diskutiert.

Methoden:

Die Herzrate variiert als Anpassungsreaktion auf unterschiedliche physiologische Abläufe. Mittels Fast-Fourier-Transformation können daraus Parameter der VNS-Aktivität errechnet werden. Hier wurden in einer doppelblinden Placebo-kontrollierten explorativen Interventionsstudie mit 40 gesunden Probandinnen die mittel- und längerfristige Wirkung des Saftes anhand von VNS-Parametern (logRSA, lnHF, lnLF, SDNN, lnTOT, VQ, HR, QPA(Schlaf), SQ(Schlaf)) eruiert. Die HRV-Messungen fanden zu 3 Zeitpunkten statt: Direkt vor (MZP1) und nach (MZP2) der Intervention, sowie nach einer 6-wöchigen Wash-out-Phase (MZP3). Der dynamische Tagesgang wurde berücksichtigt und Tag- und Schlafwerte, sowie die zirkadiane Amplitude jedes Parameters wurden mittels GLM und Post-hoc-Tests analysiert.

Ergebnisse:

Von MZP1 zu MZP2 stellen sich bei keinem Parameter signifikante Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen dar. Von MZP1 zu MZP3 gibt es, in den 24h Mittelwerten der Parameter SDNN und lnLF, einen signifikanten Anstieg der Werte der Verum-Gruppe. Unterstrichen wird dies durch niedrige p-Werte der Parameter lnHF und lnTOT. In der hier als Kontrollparameter dienenden HR zeigt sich kein Anstieg. Die Parameter logRSA, VQ und die Schlafparameter QPA und SQ weisen keine signifikante Änderung auf. Die Analyse des Tagesganges stellt sich bei vorliegendem Studiendesign als schwierig umsetzbar dar.

Diskussion:

Bei MZP 3 zeigt sich eine signifikante Erhöhung von SDNN und lnLF. Auch lnHF und lnTot sind erhöht, allerdings nicht signifikant.

Es gibt also den Hinweis auf einen Langzeiteffekt, denn stärkeres Schwingen des Systems im chronobiologischen Sinne als ein Zeichen für gesteigerte Resilienz, wird beobachtet.

Design und zu berücksichtigende Aspekte für Folgestudien, zum Beweis dieser Beobachtung, werden in der Arbeit ausführlich diskutiert (Parameterwahl, Tagesgang, ergänzende Analysen aus bestehenden Messungen, Stichprobengröße, Langzeiteffekt, Testgruppen, etc.).

Abstract

Introduction:

A healthy effect of aronia-juice on the microbiome, the oxidative state and the immune system is presumed. These systems are tightly connected to the autonomous nervous system (ANS). If by aronia-juice intake strain factors from these systems can be reduced, a reaction of the ANS-parameters, indicating resilience, is expected. In this pilot study such effect is examined in an explorative approach, giving basis for discussion of the procedure in further studies.

Methods

The heart rate is adapting to various physiological cycles. Parameters of the ANS-activity can be calculated by the Fourier-transformation. In this double-blind placebo controlled explorative intervention study with 40 healthy female participants the middle- and long-term effect of the juice were evaluated with ANS-parameters (logRSA, lnHF, lnLF, SDNN, lnTOT, VQ, HR, QPA(sleep), SQ(sleep)). The HRV was measured three times: Immediately before (MZP1) and after (MZP2) the intervention, as well as after a 6-week wash-out phase (MZP3). The course of the day was taken account of, and day, sleep and circadian amplitude values of every parameter were analysed using GLM and a post-hoc-test.

Results:

From MZP1 to MZP2 no significant change between the compared groups is detected in any parameter. From MZP1 to MZP3 in the 24h mean values of the SDNN and lnLF a significant increase in the verum group is observed. Low p-values of the lnHF and lnTOT are underlining these results. The control parameter HR (hear rate) is not increased. The parameters logRSA, VQ and the sleep parameters QPA and SQ do not point out significant changes. Analysis regarding the diurnal cycle is turning out to be hard to realize in this study design.

Discussion:

At MZP3 a significant increase of the SDNN and the lnLF is observed. Also, lnHF and lnTot are increased, although not significantly.

This indicates a long-term effect of augmented oscillation of the system in a chronobiologic sense, which is a sign of increased resilience.

The design and aspects to be thought of in a follow-up study, to prove the effect shown here, are discussed in detail in this thesis (choice of parameters, diurnal cycle, additional analysis of collected data, sample size, long-term effect, sample population, etc.).

Einleitung

Aronia, eine polyphenolreiche Frucht

Inhaltsstoffe und Metabolismus:

Aronia melanocarpa, zu Deutsch die „Kahle Apfelbeere“, gehört zu der Gruppe der Rosaceae (Rosengewächse) und stammt ursprünglich aus den östlichen Regionen Nordamerikas. Später wurde sie in Russland und schließlich in Nord-, Mittel- und Osteuropa kultiviert (1).

Die Aronia-Beere ist reich an Vitaminen (C und E), Mineralstoffen (Kalium, Kalzium und Magnesium) Carotinoiden, Pektinen und organischen Säuren (2). Vor allem aber ist sie eine der reichsten Früchte an Antioxidantien (3), wobei ihr Gehalt an Anthocyanen hervorsteicht (4, 5), der in keiner anderen Pflanze so hoch ist und etwa 25% ihrer Polyphenole ausmacht (6, 7). Die Anthocyane fassen eine Gruppe von über 700 Molekülen zusammen (8) und gehören zu den Flavonoiden, den blauen Pflanzenpigmenten. Zur antioxidativen Wirkung trägt auch noch die Gruppe der Procyanidine und der Phenolsäuren bei (1).

Die direkte enterale Aufnahme dieser Polyphenole ist sehr gering (9). Die Chlorogensäure, Baustein der Polyphenole, ist ein Esther aus Kaffeesäure und der OH-Gruppe der Chinasäure. Mit Hilfe der Darmflora (*Bifidobacterium animalis*) kann sie in erwähnte Bestandteile zerlegt und diese enteral (vor allem über den Dünndarm) gut aufgenommen werden (10-12). Die Metaboliten landen also zu einem großen Teil im Blutkreislauf (13) und können so im Organismus wirksam werden (14). Eine genaue Untersuchung von Plasmaspiegeln unterschiedlicher Polyphenole in jungen Männern nach Einnahme unterschiedlicher Aronia Präparate wurde 2019 von Ista et al. durchgeführt (15). Die Ausscheidung der Polyphenole im Plasma erfolgt über die Harnwege (2, 16).

Oxidativer Stress und Antioxidantien:

Oxidativer Stress ist eine Dysbalance zwischen radikalen Sauerstoff, Stickstoff-, oder Chlorspezies, allgemein als reaktive Sauerstoffspezies bezeichnet (ROS) und dem antioxidativen Abwehrsystem (17). Diese ROS fallen endogen in Mitochondrien (Elektronentransportkette), bei der Immunabwehr, oder durch andere oxidative Enzyme (z.B. Lipoxygenase, CYP Enzyme) an (18). Einige ROS, wie O_2^- , H_2O_2 und ^-NO , haben in geringer Konzentration regulierende physiologische Funktionen. Sie spielen eine wichtige Rolle in zahlreichen Wegen der zellulären Signaltransduktion und Regulation (19). Andere Spezies reagieren z.T. unspezifisch und irreversibel und wirken nicht regulatorisch. Hohen Spiegeln an ROS, wirken endogene Antioxidantien entgegen. In *Tabelle 1* sind einige Beispiele angeführt. Durch metabolischen Stress (bei Überernährung), psychischen Stress (20), oder auch durch die Wirkung von Zigarettenrauch, Alkohol, Pharmaka, verschmutzter Luft oder Umweltgifte, kann die Bildung von ROS überwiegen, wobei man von oxidativem Stress spricht. Das antioxidative Abwehrsystem kann durch regelmäßiges körperliches Training bei mäßiger Belastung gestärkt werden (21).

Radikale können an der DNA sowohl mit den Zuckern als auch mit den Basen reagieren. Im ersten Fall kann dies einen Einzelstrangbruch verursachen und im zweiten eine Veränderung, bei der „GC“ als „AT“ abgelesen wird (22). Es besteht also eine mutagene Wirkung (23).

Reagieren ROS mit Fettsäuren, kommt es zur Degradation dieser, aufgrund von Lipidperoxidation. Dies führt zu einer Kettenreaktion, deren Konsequenz die Schädigung von Zellmembranen sein kann. Eine weitere Folge ist die Entzündungsbildung bedingt durch oxidiertes LDL (24).

Auch Proteine unterliegen bei Einfluss von oxidativem Stress chemischen Veränderungen. Sie können aufgrund der vielfältigen molekularen Strukturen auf unterschiedlichste Weise modifiziert werden (21).

Durch Schädigung von DNA, Fettsäuren und Proteinen führt oxidativer Stress zu funktionellem Verlust, bzw. dem Altern, von unterschiedlichen Geweben im Organismus und trägt wesentlich zur Pathogenese vieler Krankheiten bei. Dies wurde unter anderem bei Artherosklerose (25) und generell kardiovaskulären Erkrankungen (26), sowie bei Krebs (27), Gelenkskrankheiten (28) und degenerativen neurologischen Erkrankungen (29) gezeigt (Siehe Abbildung 1).

Endogene Antioxidantien:	Exogene Antioxidantien:
Albumine	Ascorbinsäure (Vitamin C)
Bilirubin	Tocopherole (Vitamin E)
Harnsäure	Carotinoide (z.B. Vitamin A)
Glutathion System (v.a. Leber)	Polyphenole, wie Flavonoide
Superoxid Dismutase Enzyme	Alpha-Ketosäuren
Katalase	Melatonin
Melatonin	
NADH/NADPH System	

Table 1: Beispiele für die wichtigsten Vertreter endogener und exogener Antioxidantien

Es liegt also grundsätzlich nahe, die antioxidative Abwehr mittels exogener Antioxidantien zu verbessern. Einige Beispiele für solche Kandidaten sind in der Liste oben angeführt. Der Hype um Vitamin E und Co. als antioxidative Nahrungsergänzungsmittel, wie er vor einigen Jahren noch stattgefunden hatte, ist allerdings als Folge einiger Publikationen wieder abgeflacht. Es zeigten sich mehrfach negative Effekte bei überflüssiger Einnahme. Dies wurde schließlich durch eine große Cochrane Metaanalyse von Bjelacovic et al. bestätigt. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die langzeitige präventive Einnahme von Vitamin E und beta-Carotin zu einer leichten Erhöhung der Mortalität führt (30). Traber M. bezieht sich darauf und führt durchaus positive Beobachtungen in der Forschung mit Vitamin E an. Sie erwägt als möglichen Grund für das Ergebnis den hochregulierenden Effekt den Vitamin E auf CYP3A hat, welches „für den Metabolismus von mehr als 50% der therapeutischen Medikamente verantwortlich ist“ (31). Eine weitere Publikation, die ein breites Echo ausgelöst hat, ist die von Ristow et al. Sie zeigten, dass die Einnahme von Vitamin C und Vitamin E gesunde Auswirkungen bei Sport verhindern kann (32). Möglicherweise werden hierbei regulatorische physiologische Funktionen, die ROS im Organismus haben können, beeinflusst.

Und trotzdem steht noch die vielfach gezeigte Verbindung von Pathologien mit oxidativem Stress im Raum. Im nächsten Kapitel wird die umfassend gesunde Wirkung von Aronia beschrieben, welche zu einem guten Teil in Zusammenhang mit ihrem Reichtum an antioxidativen Polyphenolen gesehen wird.

Bei Untersuchungen der Anthocyane wurden bei umfangreicher Forschung bisher jedenfalls keine toxikologischen, oder unerwünschten Wirkungen gezeigt. Von einem WHO Experten

Committee wurde eine akzeptable tägliche Einnahme von 2,5 mg/kg/Tag festgelegt (8), was schwer zu überschreiten ist. Auch eine erwogene CYP450 Enzym Wechselwirkung (CYP1A1) zeigte sich als nicht gegeben (33), womit von keiner Medikamentenwechselwirkung der Anthocyane ausgegangen werden muss. So erleben diese im Gegensatz zu oben erwähnten Antioxidantien seitens der Forschung Aufwind und werden unter anderem als vielversprechendes Mittel gegen neurodegenerative Erkrankungen in Betracht gezogen (34). Es gilt zu beachten, dass ein isolierter Stoff oft anders wirkt als der Komplex an Substanzen, mit denen er in natürlicher Form seine Wirkung entfaltet (35, 36). Deshalb sollte die Wirkung einzelner Substanzen mit der Wirkung der gesamten Frucht verglichen werden, bevor eines der beiden Präparate bevorzugt eingesetzt wird.

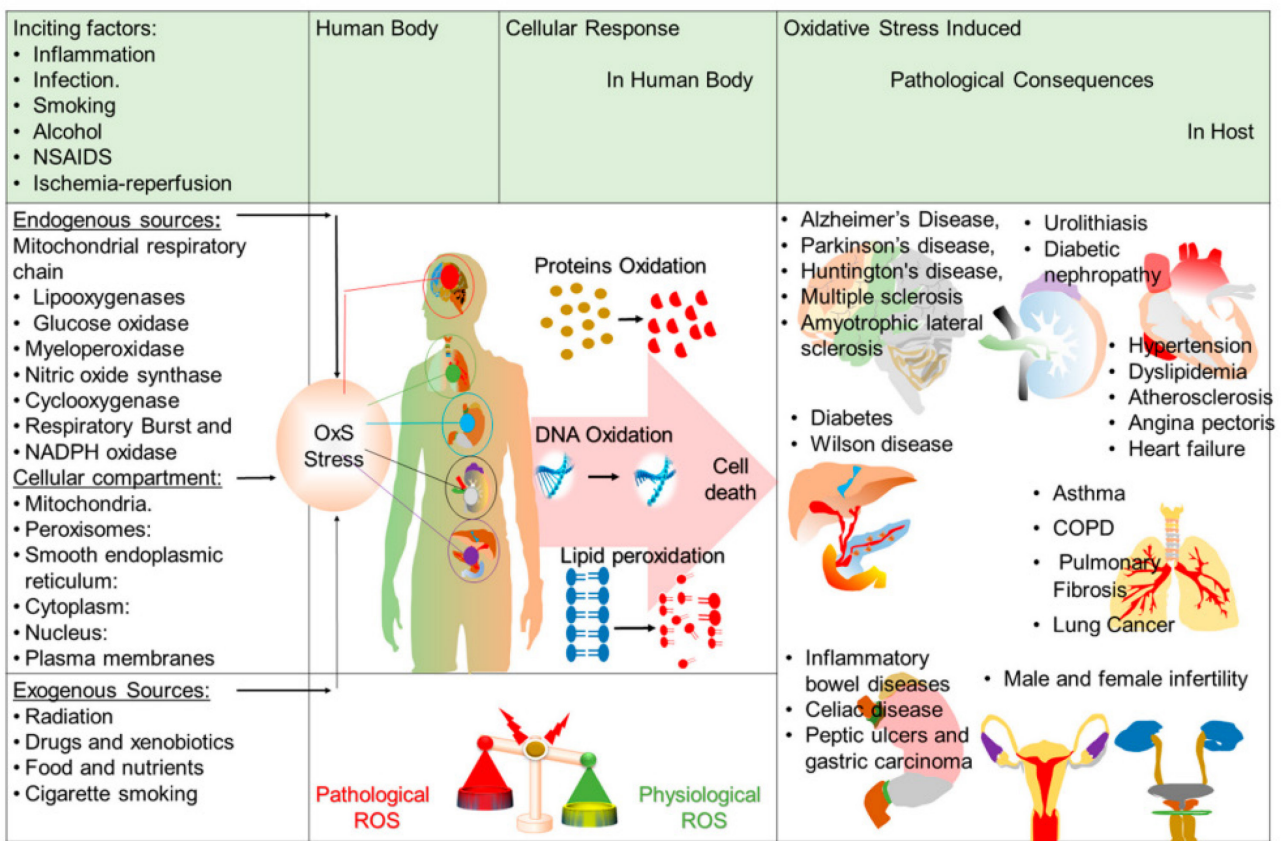


Abbildung 1 Darstellung der endogenen und exogenen Quellen von ROS, zelluläre Reaktionen und pathologische Organschäden, welche die Folge sein können.

CC by Ullah, R. et al 2019

Wirkung von Aronia:

Auf Grund der günstigen Zusammensetzung ihrer Inhaltsstoffe wirkt die Aronia sich positiv auf zahlreiche Erkrankungen aus und kann zur Prävention in Betracht gezogen werden.

Der kardioprotektive Effekt der Aronia baut auf der Beeinflussung des Cholesterinstoffwechsels (37), der Gerinnung (38-40), der Blutdrucksenkung (41, 42), unter anderem durch ACE-Hemmung, und dem Schutz der Koronararterien, wobei all diese Komponenten über viele Wege beeinflusst werden. (43, 44)

Die antidiabetische Wirkung wird verursacht durch die Modulation vieler Insulin-Signalwege (45) und durch die Wiederherstellung der Intaktheit der beta-Zellen. (46, 47)

Mit Extrakten aus Aronia konnte eine positive Wirkung gegen einige Arten von Tumorzellen bei Versuchen mit Zelllinien gezeigt werden. Darunter Zellen des Cervix- (5), Mamma- (48) und Kolonkarzinom (49), sowie der lymphoblastischen Leukämie (50). Außerdem kann der durch Chemotherapie verursachte OS reduziert werden (51). Es wurde hepato- und gastroprotektive Wirkung gezeigt (52) und insbesondere die Anthocyane werden als vielversprechende Pharmaka zur Primär- und Sekundärprävention von M. Alzheimer und M. Parkinson gesehen (34). Um sich gegen Erreger zu wehren, hat die Pflanze Inhaltsstoffe mit antibakterieller (53), sowie antiviraler Wirkung (54). Generell wirkt sie anti-entzündlich und immunmodulierend durch Hemmung von NFκB und PGE₂. Außerdem hemmen Inhaltsstoffe der Aronia die Freisetzung von IL-6, IL-8 und TNF-alpha in Monozyten. (55-57)

Mikrobiom:

Polyphenole beeinflussen Wachstum und Metabolismus der Mikrobiota im Darm (58, 59), wodurch sie einen präbiotischen Effekt ausüben. Dies hat mehrere Folgen:

Das Wachstum erwünschter Bakterien wird begünstigt und Pathogene wie *C. perfringens* und *C. histolyticum* werden verringert (60).

Die Umwandlung der Polyphenole selbst in ihre im Darm resorbierbaren Bestandteile wird verbessert.(61)

Außerdem wurde gezeigt, dass die tägliche Einnahme von polyphenolreichem Obst über einen längeren Zeitraum bei Übergewichtigen aufgrund der Veränderung des Mikrobioms, zu einer signifikanten Gewichtsabnahme führt (61).

Näher wird auf die Wirkung von Antioxidantien und Polyphenolen auf das Mikrobiom noch im Kapitel „Mikrobiom- Darm- Vagus Nerv“ unter „Stärkung des Mikrobioms“ eingegangen.

Autonome Regulation

Der Begriff „autonome Regulation“ fasst die regulatorischen Mechanismen zusammen, welche nicht unserer bewussten willkürlichen Kontrolle unterliegen und ohne diese ablaufen. Umgekehrt wird aber das Empfinden und Verhalten durch diese Mechanismen beeinflusst.

Es wird eine innere Regulation als Reaktion auf die Außenwelt und auch auf die Innenwelt beschrieben. Informationen über die Außenwelt werden durch Sinnesorgane aufgenommen und Informationen über die Innenwelt durch Perzeption im Hypothalamus, an den Zellen des Immunsystems, des somatischen Nervensystems und über Afferenzen des vegetativen Nervensystems, insbesondere des N. vagus. Letzterer wird in einem Artikel von „Trends in Neuroscience“ als der „sechste Sinn“ bezeichnet (62). Daraufhin können über zentrale Schaltstellen mittels endokriner, immunologischer und vegetativer Wege regulatorische Mechanismen in Kraft treten. Alle drei regulatorischen Wege interagieren untereinander, wodurch eine feine Abstimmung ermöglicht wird.

Eine fehlerhafte autonome Regulation kann Ursache vieler Krankheiten sein, die durch unsere Lebensweise zunehmen. Somit gewinnen das Verständnis und die Erforschung der autonomen Regulation an Bedeutung.

Vegetatives Nervensystem:

Hier soll auf Grundlagen des Vegetativen Nervensystems (VNS) eingegangen werden, weil es die Basis bildet, um die Messungen in dieser Arbeit verstehen zu können.

Altbekanntes zu Sympathikus und Parasympathikus: (63-65)

Der Sympathikus wird auch thorakolumbales System genannt, weil seine Fasern dem Rückenmark bei Th1-L3 entspringen. Die myelinisierten ersten Neurone (Rami communicantes albi) verlaufen Großteils nur sehr kurz, bis zu den paravertebralen Ganglien, welche axial miteinander zum Grenzstrang verbunden sind. Die postganglionären unmyelinisierten Neurone (Rami communicantes grisei) der kleinen Nn. splanchnici verbinden sich zum paarigen großen N. splanchnicus und die Fasern verteilen sich auf die Effektororgane.

Ein Teil der sympathischen Fasern wird erst in prävertebralen Ganglien im Bereich der großen Gefäße verschaltet, oder verläuft in andere Plexi, z.B. des Beckens.

Parallel dazu wird der Parasympathikus als kraniosakrales System bezeichnet, weil der Großteil seiner Fasern über den X. Hirnnerven, den Nervus vagus (NV), und den Beckenparasympathikus, aus S2-4 kommend, an seine Effektororgane gelangt. Der kleinere Teil der parasympathischen Fasern verläuft mit dem III., VII. und IX. Hirnnervenpaar zum Auge und den Speicheldrüsen. Der paarige N. vagus entspringt dorsolateral der Olivae aus der Medulla oblongata und verlässt den Schädel über das Foramen jugulare. Seine Äste folgen den Carotiden und ziehen entlang des Ösophagus in den Bauchraum, wo sie sich v.a. über den Plexus coeliacus (auch Solarplexus) weit über die Eingeweide verteilen und bis an den Cannon-Böhm'schen Punkt, an der linken Kolonflexur, reichen. Auf seinem Weg gibt er zahlreiche Nervenäste ab. Die parasympathischen Ganglien liegen nahe an und zum Teil in den Effektororganen. Während sich die postganglionären Fasern des Sympathikus auf den ganzen Körper verteilen, sind die des Parasympathikus beschränkt auf die Eingeweide von Kopf, Thorax, Abdomen und Becken. Ein weiterer Unterschied der beiden Systeme ist, dass der Sympathikus über eine starke und der Parasympathikus über eine geringe Divergenz verfügt. Das passt auch damit zusammen, dass der Sympathikus sich im Gegensatz zum Parasympathikus viel häufiger als Ganzes entlädt, wie es beispielsweise bei der Stimulation des Nebennierenmarks, welches modellhaft als Sympathikus-Paraganglion betrachtet wird, der Fall ist.

Es gibt also ein System, das z.B. in Notsituationen eine globale priorisierte ergotrope (=leistungssteigernde) Wirkung hat und ein trophotropes (=regenerierendes) System, das spezifischer und feiner abgestimmt regulierend wirkt.

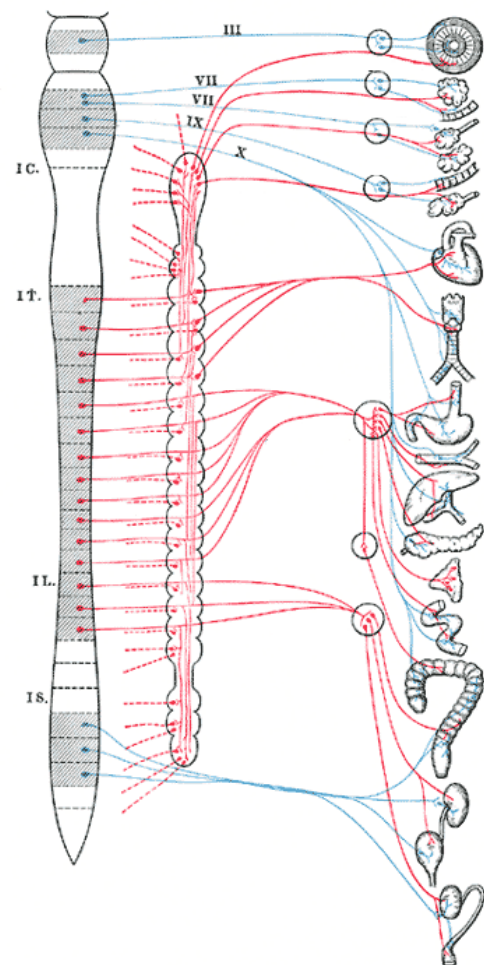


Abbildung 2 Parasympathikus und Sympathikus

CC by Henry Vandyke Carter - Henry Gray (1918)
Anatomy of the Human Body- wikimedia

Vor allem von pharmakologischem Interesse sind die Transmitter der beiden Systeme. Im beschriebenen Spezialfall des Nebennierenmarkes, sind die ausgeschütteten Transmitter Adrenalin und Noradrenalin. Ansonsten gilt Folgendes: Vom ersten auf das zweite Neuron agiert in beiden Systemen Acetylcholin über nikotinerge Rezeptoren* (Nikotin wirkt, Curare hemmt). Vom zweiten Neuron auf das Effektor-Organ verläuft die Transmission über Varikositäten. Beim Sympathikus geschieht dies fast gänzlich noradrenerg über unterschiedliche Rezeptoren und beim Parasympathikus wieder acetylcholinerg, allerdings über muskarinerge Rezeptoren (Muskarin= Fliegenpilzgift wirkt, Atropin hemmt). Es gibt Ausnahmen von eben Beschriebenem, und auch andere Transmitter und Co-Transmitter spielen in beiden Systemen eine Rolle.

*Entdeckung 1921 in Graz. Otto Loewi wurde dafür mit dem Nobelpreis ausgezeichnet.

Neue Perspektive:

Geschichtlich werden diese beiden Systeme des VNS stark vereinfacht als Antagonisten bezeichnet, da oft ein Teil aktiver ist als der andere und die ergotrope und trophotrope Funktion teilweise gegensätzlich ist. Diese Einteilung ist allerdings nur eingeschränkt richtig. Zum einen findet in den Effektor-Organen, die von beiden innerviert werden, nur in wenigen Fällen ein klassischer Antagonismus, im Sinne von Hemmung statt, denn die Antworten bestehen aus Erregung (64).

Zum anderen reagieren die meisten Organe überwiegend nur auf eines der beiden Systeme. So hat beispielsweise nur der Sympathikus Einfluss auf die gleichzeitige Kontraktion und Dilatation von Arterien und auf die Aktivität von Hautanhangsgebilden wie Schweißdrüsen und Mm. arrectores pilorum. Der Parasympathikus hingegen überwiegt bei der Aktivität der Mundspeicheldrüsen, der Tränendrüsen und der Nahakkommodation als Regulator.(64)

Es zeigt sich an den Beispielen der Herzkontraktilität, des Immunsystems(66, 67) und der Sexualität klar, wie Sympathikus und Parasympathikus als Agonisten zusammenwirken können.

Beide Systeme zusammen wirken stärker inotrop auf den Herzmuskel als der Sympathikus allein. Auf die teils synergistische Wirkung der beiden Teile auf das Immunsystem wird im Teil „VNS und Immunsystem“ eingegangen. Das koordinierte Zusammenwirken der beiden Teile des VNS beim Sexualakt kann andernorts nachgelesen werden (63).

Die Perspektive auf die beiden Systeme hat sich unter anderem aufgrund von Erkenntnissen durch die technische Möglichkeit der non-invasiven Aufzeichnung ihrer Aktivitäten (Beschreibung im Methoden-Teil dieser Arbeit) verändert.

Das Enterische Nervensystem (ENS):

Ein besonders interessanter und noch nicht so lange erforschter Teil des VNS ist das Darmnervensystem, welches sich über den gesamten Gastrointestinaltrakt erstreckt. Es beinhaltet geschätzte 150- 500 Millionen Neurone. Das ist, abgesehen vom Gehirn die größte Anhäufung von Neuronen im menschlichen Körper (68). Da Struktur, Funktion und chemisches Coding wie beim Gehirn sind, spricht man vom "Gut brain" (=Darmhirn) (69).

Es teilt sich auf in Plexus myentericus, welcher die gastrointestinale Durchblutung und Funktion der epithelialen Zellen, wie z.B. Sekretion, reguliert, und Plexus submucosus, der hauptsächlich für die Kontraktion und Entspannung der Darmwand zuständig ist (70). Das ENS ist auch an der Immunantwort und der Perzeption von Nahrungsbestandteilen im Darm beteiligt (71). Es ist das autonomste aller Systeme des VNS und kann ohne Einflüsse des ZNS funktionieren, wird allerdings von Sympathikus und Parasympathikus moduliert (63).

Besonderheiten des Nervus Vagus:

Der N. vagus (NV) ist der faserreichste Nerv des VNS und verfügt über etwa 85% Afferenzen und 15% Efferenzen, wobei die Angaben etwas variieren (80-90% Afferenzen). Es konvergieren also viele viszerosensible Reize, die zu verhältnismäßig weniger motorischem Output führen. Das spiegelt sich zum einen in einer fein abgestimmten regulatorischen Antwort wider und liegt zum anderen daran, dass Vagus Afferenzen auch andere Systeme, wie die HPA-Achse beeinflussen (72, 73). Im Vergleich dazu führen die thorakolumbalen Eingeweidenerven etwa 50% Afferenzen und 50% Efferenzen (64).

Ein großer Teil der vegetativen Afferenzen wird durch Dehnung, Kontraktion, Druck und Volumen erregt und ein gewisser Anteil durch Osmo- und Chemosensoren (64). Letzterer Teil ist insofern interessant, als er eine Schnittstelle der neuralen mit der endokrinen und immunologischen Achse der autonomen Regulation bildet.

So perzipiert der NV zumindest den Großteil der gastrointestinalen Hormone (74) und alle klassischen Qualitäten der Entzündungsreaktion (67) und interagiert mit Zellen des Immunsystems (66). Dies wird in den folgenden Kapiteln erläutert.

Grundlagen zu zentralen Projektionen des VNS:

Das zentrale autonome Netzwerk (ZAN) (63, 75, 76) besteht aus verschalteten Teilen des ZNS und ist ein koordinatives Zentrum in dem viszerosensible und nozizeptive Informationen aus dem Organismus zusammenfließen und koordiniert werden. Dazu gehören folgende Areale (Auflistung und schwarze Bereiche in *Abbildung 3*):

- Ncl. Tractus solitarii (NTS)
- Periaquäduales Höhlengrau (PAG)
- Ncl. paravertebralis
- Corpus amygdaloideum
- Ventroposteriorer Thalamus
- Hypothalamus

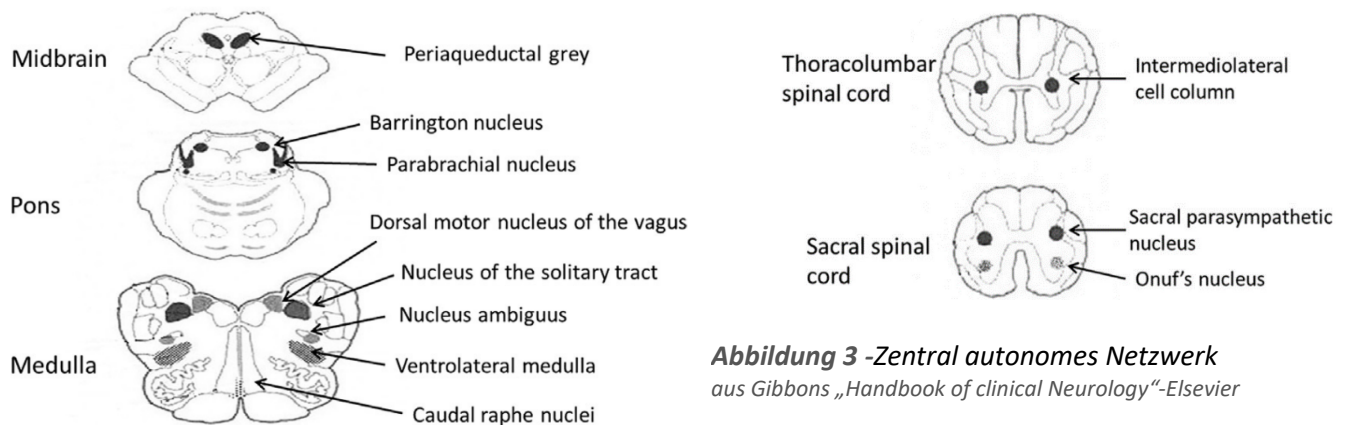


Abbildung 3 -Zentral autonomes Netzwerk
aus Gibbons „Handbook of clinical Neurology“-Elsevier

Regulation kann teils innerlich stattfinden, z.T. ist allerdings eine Änderung des Verhaltens notwendig. Dies kann durch Fortleitung der afferenten Signale über den Ncl. Parabrachialis ins Großhirn und über den Hypothalamus, bei dem viszerosensible Informationen aus dem gesamten Organismus zusammenfließen, beeinflusst werden. Hierbei ist die Verbindung von Hypothalamus mit dem limbischen System und dem präfrontalen Kortex aktiv.

Wenn ein regulatorischer Prozess stattfindet, ist es von großem Vorteil, Gedächtnis darüber auszubilden, um eine Situation in Zukunft vermeiden, oder schnell regulieren zu können. Im Corpus amygdaloideum führen Eingänge aus Hippocampus, Kortex, Thalamus und speziell viszeroafferente Eingänge über den Ncl. parabrachialis zu konditionierten Verhaltensweisen. Vegetative Efferenzen werden hauptsächlich von PAG, Corpus amygdaloideum und Hypothalamus aktiviert. Dabei sind der dorsale motorische Vaguskerne und andere Hirnnervenkerne zwischengeschaltet, bevor das Signal in die Peripherie geleitet wird.

Vegetatives Nervensystem und Immunsystem

Hier wird kurz auf die Schnittstelle zweier Achsen der autonomen Regulation eingegangen, welche bei vielen Krankheiten, darunter auch Adipositas und Depression, eine Rolle spielt. Es geht um die Interaktion der inflammatorischen und der neuronalen Achse. Der neuronale Teil wird hier vor allem durch den N.vagus geprägt.

Immunzellen haben Rezeptoren für Neurotransmitter des VNS und Afferenzen des VN Rezeptoren für einige IL und Zytokine. Die wichtigsten von Makrophagen ausgeschütteten proinflammatorischen Zytokine sind IL-1 β , TNF- α und IL-6 (systemische Entzündung, Fieber). 2002 beschrieb Tracey in seinem „Nature“ Review „The inflammatory reflex“ den Vagus als Regulator von Entzündung. Darin wird beschrieben wie er IL-1 und TNF-alpha perzipiert und damit eine Reflexschleife, welche über das ZNS läuft, aktiviert werden kann. Am Ende dieser Reflexschleife werden periphere Makrophagen über deren nikotinerge ACh-Rezeptoren in ihrer Zytokin-Ausschüttung gehemmt. Der beschriebene Reflex läuft topisch, schnell und bei geringen Mengen an TNF-alpha ab (66).

In den darauffolgenden Jahren wurden die Erkenntnisse über reflexartige neuroimmunologische Interaktionen, unter anderem, um folgende Punkte erweitert:

- 1) Efferenzen des Reflexes können über den N. splenicus, noradrenerg vermittelt, T-Zellen so verändern, dass sie ACh ausschütten, womit sie in entzündetem Gewebe wiederum Makrophagen in ihrer Zytokin-Ausschüttung und Produktion hemmen (77, 78). Dem kommt bei Endotoxämie eine große Bedeutung zu (79).
- 2) Über die noradrenerge Transmission des N. splenicus wird außerdem die Antikörperproduktion in den B-Zellen reguliert (80, 81).
- 3) Die Stimulation des N. ischiadicus führt zu einer Aktivierung von vagalen Afferenzen, welche zum Nebennierenmark gehen und dort zu einer Dopaminausschüttung führen, die über D1 Rezeptoren die systemische Entzündung hemmt. Das hat in Tieren mit Sepsis das Überleben verbessert (82). In Mäusen mit Arthritis konnte mittels N. ischiadicus Stimulation die Entzündung gehemmt werden (83).
- 4) Über ein dichtes Fasernetzwerk steht der Vagus Nerv auch in Verbindung mit Darm-Makrophagen der Tunica muscularis, deren Aktivität und funktionellen Phänotyp er über deren nikotinerge Ach-Rezeptoren beeinflusst (84). Diese Regulation läuft im Zusammenwirken mit dem Darmmikrobiom ab (85, 86).

- 5) Nozizeptoren können „pathogen associated molecular patterns“ (PAMPs) erkennen und Neuropeptide ausschütten, welche direkt im Entzündungsort die Immunantwort hemmen können (87).
- 6) Nozizeptoren können bei allergischen Reaktionen in der Lunge mittels der Perzeption von IL-5 diese regulieren (88).

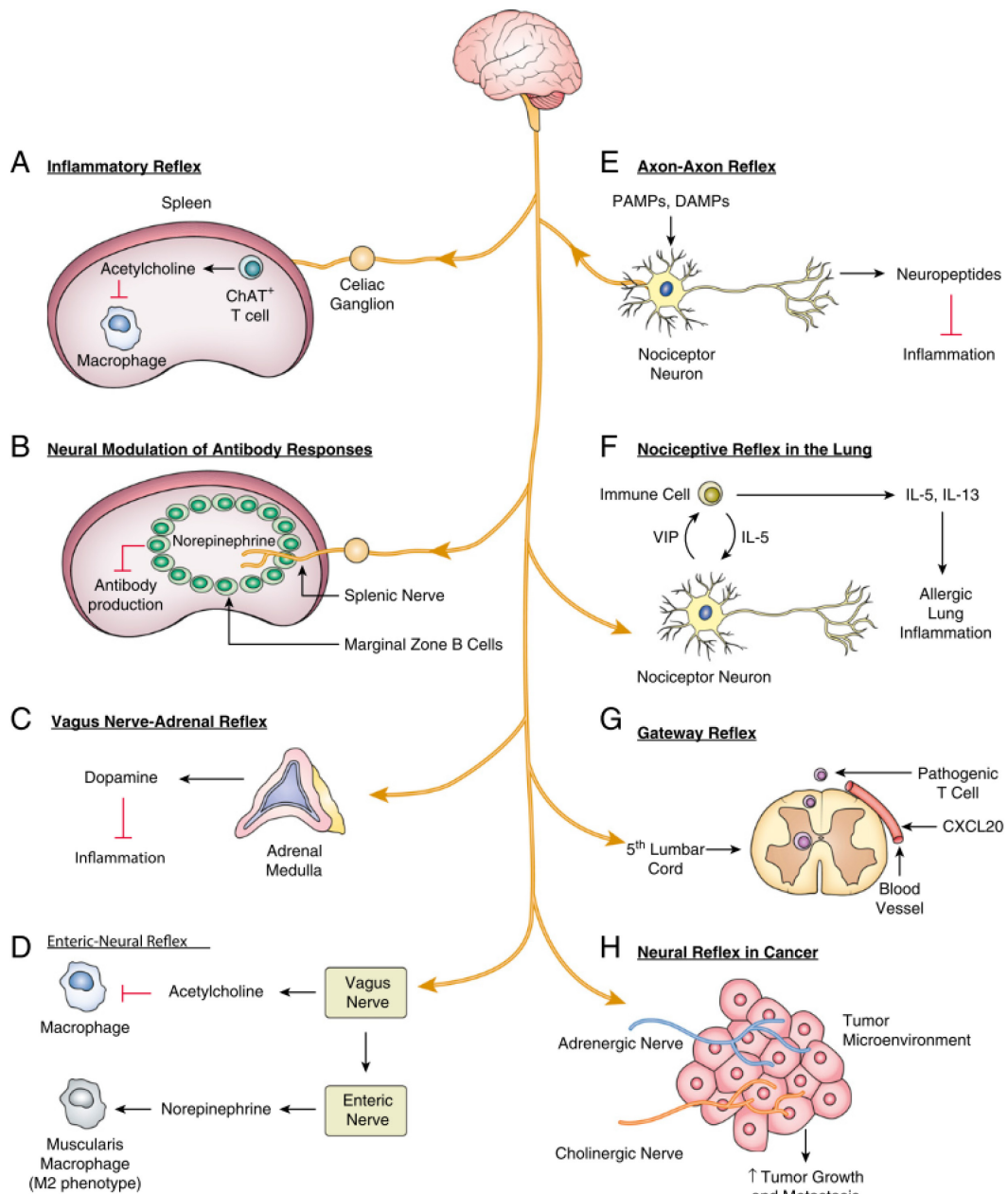


Abbildung 4 Interaktion VNS und Immunsystem
 aus "Essential Neuroscience of Immunology" by Chavan, S. S.; Tracey, K. J.

Interessante Beobachtungen zu den hier erklärten Mechanismen:

Bei Herzratenvariabilitäts-Messungen (HRV) zeigt sich generell eine negative Korrelation zwischen HRV und Entzündung (89).

Mittels elektrischer VN-Stimulation konnte bereits in Patient*innen mit rheumatoider Arthritis eine Besserung erzielt werden (90) und eine Pilotstudie weist darauf hin, dass diese bei M. Crohn wahrscheinlich wirksam ist (91). Viele weitere entzündliche Erkrankungen sind Gegenstand der Forschung mit elektrischer VN Stimulation.

Auf Basis der in 1 und 2 beschriebenen Mechanismen, zeigte die Stimulation der Milz mittels Ultraschalles bereits interessante Ergebnisse (publiziert in „Nature Communications“). Dabei wurde in Mäusen unter anderem eine Besserung von Arthritis bewirkt (92). Das erfolgte auch bei Transfusion von Blut dieser Mäuse an andere. (Ähnliches bei VN Stimulation mittels Ultraschall in der Leber, wobei hierbei vor allem metabolisch regulatorische Reflexe ausgelöst wurden (93). Mittels Ultraschall Stimulation können Vagus Fasern gezielter stimuliert werden als mit Elektroden.)

Interessant ist auch, dass der „Inflammatory Reflex“ durch einen Stimulus ausgelöst werden kann, der zuvor mit Entzündung einherging. Eine Klassische Konditionierung nach Pavlov ist also scheinbar möglich, wie Versuche zeigten (94, 95).

HPA und Sympathikus:

Auch die Endokrine HPA-Achse der autonomen Regulation kann durch den NV aktiviert werden, was direkt über das ZAN vermittelt wird (66) und bei Perzeption von IL-1 durch den NV (72), sowie elektrische NV Stimulation (73) gezeigt wurde.

Der Sympathikus wirkt partiell synergistisch mit dem NV auf das Immunsystem. Möglicherweise bilden sogar sympathische Fasern den Efferenten Anteil des „Inflammatory Reflex“, mit seiner noradrenergen Transmission in der Milz. Pongratz und Straub beschreiben in ihrem Review am Beispiel der Arthritis, dass zu Beginn eines entzündlichen Prozesses der Sympathikus eher einen entzündungsfördernden, im späteren Verlauf allerdings einen entzündungshemmenden Effekt hat. Außerdem beschreiben sie Prozesse, die indirekt zur Bewältigung von Entzündung beitragen, wie Änderung des Blut- und Lymphflusses (96). Eine interessante Wirkung des Sympathikus ist seine circadiane Steuerung der Leukozyten-Migration ins Gewebe (97). Die Wirkung des Sympathikus auf das Immunsystem hängt vom Ausmaß seiner Aktivierung ab. So führt höhere Aktivierung zur Ausschüttung von IL-10,

welches stark antiinflammatorisch wirkt durch Monozyten (98) und zur Suppression von TNF- α und anderen Zytokinen (99).

Mikrobiom- Darm- Vagus:

Der Darm ist ein Organ, in dem die Prozesse der autonomen Regulation besonders interessant sind. Die Kommunikation zwischen Darm, seinem Mikrobiom (MB) und dem Gehirn findet zu einem wesentlichen Teil über den NV statt.

Der Verdauungstrakt bildet die größte Oberfläche, über die der Mensch mit Fremdem in Kontakt kommt. Dementsprechend ist er auch das lymphozytenreichste Organ des Organismus und man kann sich vorstellen, dass hier der NV über den zuvor beschriebenen „Inflammatorischen Reflex“ eine ganz besonders wichtige Rolle bei der immunologischen Regulation spielt.

Betrachtet man die Anatomie des NV, der bis zur linken Kolonflexur verläuft, im Detail, so zeigt sich, dass seine sensiblen Enden bis zum Epithel der Mukosa reichen, wobei sie sich in drei Fasersysteme aufteilen. Diese versorgen Villi, Krypten und Drüsen (100). In dieser Zone findet sehr viel Kommunikation statt. Die erfassten Signale werden von der Ernährung und dem Mikrobiom beeinflusst und wirken sich, wie schon erwähnt, auf den Appetit, aber auch auf Stimmung und Verhalten aus. (101)

Einige Versuche zeigten die Bedeutung des NV als Mediator:

2004 konnte eine Forschergruppe, nachdem sie Mäuse mit *Campylobacter pylori* infiziert hatten, mittels immunhistochemischer Färbung des neurologischen Markerproteins c-Fos, die Aktivierung von Ncl. tractus solitarii und Ncl. parabrachialis, also Teilen des ZAN zeigen. Damit wurde auch eine Veränderung des Verhaltens der Mäuse in Zusammenhang gestellt (101).

Im Gegensatz dazu konnten in Versuchen mit nicht pathogenen Mikrobiota positive Vagus medierte Effekte im ZNS beobachtet werden.

So wurde im Versuch mit Mäusen, bei denen zuvor chemisch mittels Myeloperoxidase eine Darmentzündung erzeugt wurde, beobachtet, dass die Verabreichung von *Bifidobacterium longum* über 3 Wochen einen angstreduzierenden Effekt hat. Bei Vagotomie fiel diese Wirkung aus (102).

Aufgrund ihres Einflusses auf Prozesse im Gehirn, kommt vor allem den Lactobacillus Arten eine Bedeutung zu. So wurde im Mausmodell gezeigt, dass die chronische Verabreichung von Lactobacillus rhamnosus eine Veränderung in der GABA Expression in präfrontalem Kortex, Amygdala und Hippocampus (also Teilen des ZAN) verursachte, wie sie bei Depression gegensätzlich abläuft. Damit einhergehend wurde ein „reduzierter Stress- induzierter Kortisonanstieg und ein reduziertes Angst- und Depressions- bezogenes Verhalten“, beobachtet. Auch dieser Effekt fiel in vagotomierten Mäusen aus. (103)

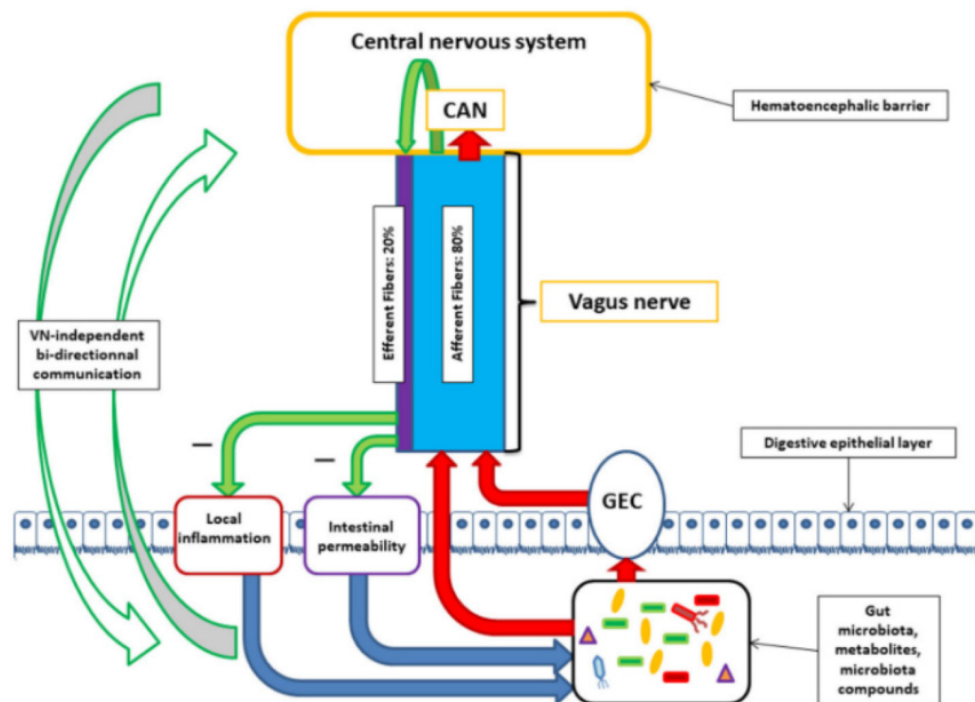


Abbildung 5 aus "The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis" Bonaz, B.; Bazin, T.; Pallissier, S.; 2018
GEC...gastrointestinal endocrine cells

Vagus medierte Kommunikation des Mikrobioms mit dem Gehirn:

Es ist wichtig, dass Darm und Mikrobiom mit dem Gehirn kommunizieren, denn von da aus wird über den VN die Nahrungsaufnahme und Sekretion gesteuert. Die Kommunikation zwischen Mikrobiom und Gehirn läuft bidirektional über endokrine (HPA, „Enterotransmitter“), immunologische (TNF-alpha, „Infl. Reflex“, ...), metabolische (Tryptophan, SCFAs, ...) und neurale Wege (VN) ab.

Hier soll auf die Vagus-medierte MB-zu-Gehirn-Kommunikation etwas genauer eingegangen werden, um zum Verständnis der oben angeführten Versuche beizutragen.

Über die vielen Rezeptoren kann der NV durch Signalstoffe aktiviert werden. Bei kleinen Molekülen, wie „short chain fatty acids“ (SCFA), kann dies direkt geschehen, weil sie durch die Mukosa zu seinen Afferenzen hin diffundieren können. Bei Katzen wurden unterschiedliche Fettsäurerezeptoren an den Vagus-Afferenzen gefunden (104). Größere Moleküle, wozu Bakterienbestandteile, sogenannte „membrane associated molecular patterns“ (MAMPs), wie Lipoprotein A (LPA), gehören, binden an Toll-Like-Rezeptoren (TLR) der Enteroendokrinen Zellen (EEZ). Diese schütten Cholezystokinin (CCK) aus und aktivieren so den NV (105). Auch die Vagus-Afferenzen präsentieren TLR4, an denen MAMPs binden können (106).

Serotonin ist ein wichtiger Transmitter der von den EEZ bei mechanischer oder chemischer Stimulation, z.B. durch Glukose(105), ausgeschüttet wird. Es gibt auch Darm Mikrobiota, die Serotonin produzieren können (107). Die vagalen Afferenzen verfügen sowohl zentral, peripher, als auch am Ganglion nodosum über 5HT-3 Rezeptoren. Somit führt mechanische Stimulation im Darm, durch Serotoninausschüttung der EEZ, zur Aktivierung von vagalen Neuronen und auch sekundären Neuronen des NTS (108).

Bei der Elektrostimulation des Vagus Nerv konnten erhebliche Änderungen im zentralen monoaminergen System beobachtet werden (109).

Welche Mechanismen hinter den oben angeführten Mausversuchen stehen, ist nur zum Teil erklärbar. Fest steht allerdings, dass der NV, in gemeinsamer Wirkung mit anderen Systemen, in der Mikrobiom-Darm-Hirn-Achse eine Rolle spielt und seine Aktivität bei Manipulation des MB berücksichtigt werden sollte.

Wirkung von „Stress“ auf das Mikrobiom:

Bei psychischem Stress wird Corticotropin-Releasing-Factor (CRF) und damit in Verbindung Urocortin ausgeschüttet, deren Rezeptoren nicht nur zentral, sondern auch im Darm vorkommen. Über diese Rezeptoren wird die Darmpermeabilität erhöht und die Zusammensetzung des Mikrobioms verändert (110), was sich auf entzündliche Darmerkrankungen und das Reizdarmsyndrom auswirkt. Verstärkt dadurch, dass auch von Mastzellen diese Faktoren ausgeschüttet werden (111). Bei geringem Vagotonus kann diesem entzündlichen Prozess über den „Inflammatory Reflex“ nicht entgegengewirkt werden. Die Arbeit von Moussaoui et al zeigt, dass chronischer Stress bei Ratten in der ersten Lebenswoche Dysbiose durch Veränderung der Darmpermeabilität verursacht (112).

Stärkung des Darm-Mikrobioms:

1999 erst wurde die erste WHO Definition von Probiota veröffentlicht: „Live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host“ (113).

Nicht alle dauerhaft verabreichten Mikrobiota verursachen eine nachweisbare Veränderung des Darmmikrobioms. Wobei nicht nur die Zusammensetzung des Darmmikrobioms eine Rolle spielt, sondern auch die Stoffwechselaktivität. So erhielten McNulty et al. in einer Studie mit monozygoten Zwillingen, welche fermentierte Milch zu sich nahmen, interessante Ergebnisse. Es gab kaum eine Änderung in der Zusammensetzung des MB, allerdings eine signifikante Änderung im Metatranskriptom, also in der Aktivität des MB (114).

Die meistverwendeten Probiota sind vor allem Lactobacillus- und Bifidobacterium-, aber auch Enterococcus- und Propionibacterium- Arten (115). Probiota finden bei unterschiedlichen gastrointestinalen Erkrankungen Anwendung (116).

Ein anderer Weg, um das Mikrobiom zu verändern, sind Präbiota. Das sind nichtverdauliche Nahrungsbestandteile, welche allerdings Mikrobiota als Energiequelle zur Verfügung stehen und das MB so verändern, dass es für den Wirten gesundheitsförderlich ist (117). Bei den altbekannten Präbiota handelt es sich um unterschiedliche Oligosaccharidverbindungen. So sind z.B. Fructoseketten (kurze Fructooligosaccharide, wie Inulin, und langkettige Fructane) günstig für das Wachstum von Lactobacillus- und Bifidobacterium- Arten. Diese finden sich z.B. in Weizen und Hafer. Reiche Quellen an Inulin sind unter anderem die Wurzeln des Chicorée, Yacon (118) und des verwandten, Topinambur (119).

Kombinationspräparate von Probiotika und Präbiotika nennt man Synbiotika (118).

Kumar fasst in seinem Review die präbiotische Wirkung vieler Polyphenole in der Nahrung auf das Mikrobiom zusammen (120). Sehr viele Polyphenole begünstigen das Wachstum von Lactobacillus- und Bifidobacterium- Arten. Eine Studie zu den Anthocyanen war nicht dabei, allerdings wurde der Effekt in Studien zu Proanthocyanidin und Flavonoiden (allgemein) einbezogen, welche in Aroniasaft in hohem Maße vorkommen. U.a. wurde die antimikrobielle Wirkung auf Pathogene und Bakterientoxin-deaktivierende Wirkung in Mäusen und anti-inflammatorische Wirkung in Ratten mit Colitis zusammengefasst.

Bei der Einnahme von Aronia in unterschiedlichen Formen konnte bei jungen Männern eine Veränderung im Mikrobiom beobachtet werden, welche potenziell mit Effekten, wie Gewichtsabnahme, Vermeidung von Entzündungsprozessen im Darm und verringertem kardiovaskulärem Risiko, einhergeht (15).

Oxidativer Stress und Vagus Nerv:

Auch oxidativer Stress (OS) spiegelt den metabolischen Zustand wider und er ist bei Adipositas erhöht (121). OS kann in mehreren Stoffwechselwegen entstehen, weshalb es eine Vielzahl von Molekülen gibt, die als Analyseparameter in Betracht gezogen werden können. Die Wahl der für eine Untersuchung am besten geeigneten Parameter ist komplex und Gegenstand aktiver Forschung.

Cipak Gasparovic et al. präsentieren in ihrem Review die Herzratenvariabilität (HRV), welche die Aktivität des VNS widerspiegelt, als vielversprechenden „integrativen Parameter ... zur Evaluierung von Bedeutung und Signifikanz molekularer Biomarker“ (122). Wie schon im Kapitel „*Oxidativer Stress und Antioxidantien*“ beschrieben, ist zur Vermeidung von OS ein Gleichgewicht von ROS und antioxidativem Abwehrsystem entscheidend. Hier kommt der Vagus Nerv ins Spiel, denn seine Aktivität korreliert mit der Resistenz gegenüber oxidativem Stress, wie es in *Tabelle 2* aufgelistet ist. Das spiegelt sich vor allem bei lipidartigen Parametern und Malondialdehyd (MDA) wider, welche negativ mit der HRV korrelieren (123-125). Generell lässt sich sagen: Krankheiten, die mit oxidativem Stress assoziiert sind, gehen mit niedriger HRV einher (122).

Resistenz gegenüber oxidativem Stress	Hochfrequenzband in % (Vagus Anteil in HRV)
hoch	60-75%
mittel	35-45%
niedrig	20-30%
sehr niedrig	10-25%

Tabelle 2 Korrelation zwischen Vagus Tonus und oxidativer Resistenz nach Cipak Gasparovic et al. (122)

Die Optimierung der kardiorespiratorischen Funktion bei Vagus-Aktivität könnte eine Erklärung hierfür sein. Eine ausreichend aerobe Stoffwechsellage ist notwendig, damit eine Reihe von Enzymen der oxidativen Abwehr (siehe Kapitel „*OX Stress*“) aktiv sein können(126). Darum korreliert eine anaerobe Stoffwechsellage mit vermehrter Bildung von ROS. Die Sauerstoffversorgung zeigt sich in den Spiegeln von pO₂, pCO₂ und pH und wird mittels Anpassung von Atmung und Herzrate durch den Vagus Nerv reguliert (127).

Der NV moduliert den oxidativen Status auch noch über andere Mechanismen. *Tsushima et al.* zeigten 2008 zum ersten Mal die Reduktion von entsprechenden Parametern durch

elektrische VN Stimulation in Mäusen, in denen eine Myokardischämie erzeugt wurde (128). Auch andere, ähnliche Versuche kamen zu diesem Ergebnis (129, 130). Man könnte sich den Effekt damit erklären, dass, wie auch beobachtet, die Noradrenalin Transmission reduziert wird und somit der verringerte O₂ Verbrauch bei verringerter Herzfrequenz zu den Ergebnissen geführt hat. Allerdings konnten *Jiang et al.* in einer Studie eine Reduktion des oxidativen Stresses mittels elektrischer NV Stimulation auch bei cerebraler Ischämie in Ratten zeigen. Die vagale Aktivität führte zur Expression einer mikro-RNA (miRNA-210), welche, nicht nur im ZNS, den mitochondrialen Stoffwechsel und Apoptose reduziert und ein Schlüsselmolekül in diesen Vagus assoziierten Effekten sein könnte (131).

Kürzlich wurde bei Mäusen mit Leberischämie unter NV Stimulation noch ein anderer molekularer Mechanismus gezeigt. Vagus-mediert wurde die Aktivierung des Nrf-2/HO-1 Weges verstärkt, welcher für „Regulierung des oxidativen Stresses und Hochregulation zytoprotektiver Enzyme“, sorgt (132). In derselben Studie wurden auch molekulare Vagus-medierte Wege zur Verringerung der Apoptose entdeckt und eine Verringerung von oxidativem Stress, Entzündung und Gewebsschaden gezeigt.

Bezerra et al. implementierten, in ihren Versuchen an Ratten mit Myokardinfarkt, Parameter des bereits im Kapitel „VNS und Immunsystem“ beschriebenen „cholinergen antiinflammatorischen Weges“. Sie stimulierten den VN pharmakologisch mittels Pyridostigmin und analysierten umfangreich die Aktivität antioxidativer Enzyme, Parameter der Protein- und Lipidoxidation, Phänotypen der infiltrierten Immunzellen und Zytokinspiegel. Alle Parameter präsentierten sich im Sinne reduzierten oxidativen Stresses bzw. einer reduzierten Entzündungsreaktion (133). Betrachtet man durch chronischen OS bedingte Krankheiten in Zusammenhang mit dem Vagus-Tonus, sollte man also auch diesen Weg nicht außer Acht lassen. Das wird mit der Studie verdeutlicht.

Denn chronischer oxidativer Stress verursacht Gewebsschaden und Entzündung, und chronische Entzündung verursacht oxidativen Stress (27, 134). Der Vagus Nerv reguliert beides über mehrere Wege.

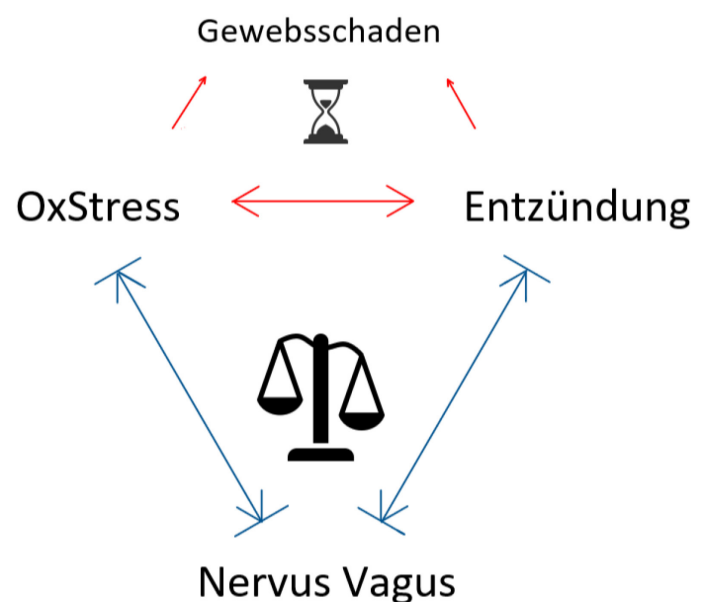


Abbildung 6 Schema OS- Entzündung- VN
 Waagschale und Sanduhr CC by „Icons8“;
icon-icons.com/de/symbol/Sanduhr/3243;
icon-icons.com/de/symbol/Schalen-der-Waage-kippt-Escalas-de-la-balanza/4323

Stress:

Dieses Kapitel wird, wie es auch historisch abgelaufen ist, mit einer eher biologischen Betrachtung des Phänomens Stress begonnen und führt schließlich mehr zu einer biopsychosozialen Perspektive. Stress ist ein klassisches Thema, bei dem es schwer ist, die biologische und psychosoziale Blickweise voneinander zu trennen. So wirkt sich biologischer Stress immer auf Psyche und Verhalten aus und psychischer Stress macht sich körperlich bemerkbar und kann durch Verbesserung der körperlichen Konstitution verringert werden.

Den Grundstein für die Erforschung von Stress legte 1878 Claude Bernard. Er befasste sich mit der Aufrechterhaltung des inneren Milieus („milieu intérieur“) gegenüber Umwelteinflüssen (135). Sein Konzept wurde von Walter Cannon erweitert, welcher den Begriff „Homöostase“ etablierte. Er erkannte, dass physiologische Änderungen psychisch bedingt, z.B. bei Angst, Wut, Schmerz oder Hunger, auftreten können (136).

Stress nach Selye:

Hans Selye leistete schließlich Pionierarbeit in der Erforschung von Stress und verwendete auch als erster diesen, aus der Physik stammenden, Begriff in Zusammenhang mit physiologischen Abläufen. Er erkannte, dass ein Stressor zum einen eine spezifische homöostatische Antwort verursacht und zum anderen jede Art von Stressoren zu einer einheitlichen unspezifischen Antwort führt. 1936 publizierte er seine Beobachtungen zu dieser Antwort in Mäusen, welche unterschiedlichen Belastungen ausgesetzt worden waren (137) Es fielen ihm viele morphologische Veränderungen auf, darunter:

- lymphatische Gewebe: alle Verkleinert
- Nebennieren: initiale Verringerung der lipoiden und chromaffinen Substanz, später Hypertrophie
- Magen- und Darmmukosa: Erosionen der Mukosa bis zu Ulcerabildung
- nach längerer Zeit: Schilddrüsenhyperplasie und Gonadenatrophie

Selye fand also bereits Hinweise auf viele Stressreaktionen, welche später noch genauer verstanden wurden. Die angeführten Veränderungen fasste er in drei Phasen zusammen:

1. *Alarmreaktion:* Hier werden Sympathikus und Hypothalamus (sowie andere Bereiche des ZNS) aktiviert. Dies führt zur Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark und zur ACTH- und in Folge Glukokortikoidausschüttung (NN-Rinde). Dadurch verändert sich das Verhalten, Puls und Blutdruck steigen und es werden Energiereserven mobilisiert, wobei Proteine abgebaut (Selye beobachtete Ödembildung) und Aminosäuren zu Glukose umgewandelt werden. Außerdem kommt es in Abstimmung mit der katabolen Stoffwechsellage zu Immunsuppression.
2. *Widerstandsphase:* Hier ist der Körper bestrebt, das Stessniveau zu reduzieren, wobei der aktivierte Zustand noch aufrechterhalten wird, allerdings weniger Energie dafür zur Verfügung steht. Es finden, verglichen mit der Alarmreaktion, wieder vermehrt anabole Prozesse statt, Gonadotropin- und Prolaktinausschüttung sind allerdings gehemmt. (138) Diese Phase kann abhängig vom Stressor und dem Individuum in Erholung und Adaptation, oder in Erschöpfung übergehen.
3. *Erschöpfungsreaktion:* Nach andauernder Belastung kommt es zu einem Verlust der Widerstandsfähigkeit, weil die Ressourcen aufgebraucht sind. Selye berichtet in seiner Publikation vom Auftreten ähnlicher Symptome, wie in der ersten Phase.

Hans Selye bezeichnete diese Sequenz als „Generelles Anpassungssyndrom“. Folgeschäden fasste er unter dem Begriff „Adaptationsstörung“ zusammen.

Selye war fasziniert davon, dass unterschiedlichste Reize, wie z.B. auch ein Kuss, eine Stressantwort auslösen können. Er beobachtete, dass Ratten, welche über längere Zeit einem geringeren Ausmaß an Stressoren ausgesetzt waren, in der Widerstandsphase Resistenz aufbauten, was auf Dauer zu einem Abklingen der Stressreaktion führte. Ein Stressmaß, das die Funktionalität erhöht und sich positiv auf die Gesundheit auswirkt, bezeichnet man als Eustress. Erlaubt das Stressmaß keine Adaptation und hinterlässt es Schäden, so spricht man von Disstress.

Beim Menschen führt chronischer Disstress zu zahlreichen körperlichen, psychischen und psychosomatischen Erkrankungen, im Wesentlichen bedingt durch hohe Kortisol- und Adrenalinpiegel.

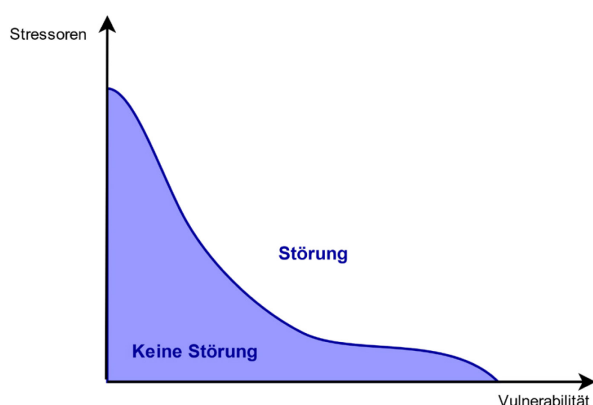
Allostase

Ein weiteres wichtiges Stressmodell ist das Modell der Allostase und der allostatistischen Last. Im Gegensatz zur Homöostase, dem Aufrechterhalten des inneren Zustandes, beschreibt die Allostase eine Anpassungsreaktion durch Veränderung des inneren Zustandes, welche schließlich zu physiologischer Stabilität führt (Eustress). Dies wird auch durch chronobiologische Beobachtungen bestärkt, die zeigen, dass die Aktivität der unterschiedlichen Systeme im Organismus einem zeitlich periodischen Verlauf unterliegt und sich in ständiger Veränderung befindet (139). Auch die Allostase läuft mittels Stresshormonvermittelter Reaktionen, wie sie Selye beschrieben hat, ab. Sie kann allerdings nicht nur als Reaktion auf besonderen Anspruch (Typ 1 Reaktion), sondern auch in Erwartung auf einen solchen stattfinden (Typ 2 Reaktion), womit in diesem Modell psychosozialer Stress impliziert wird (140). Eine weitere Neuheit in diesem Modell ist, dass die Stressantwort als abhängig von individuellen biopsychosozialen Ressourcen betrachtet wird. Die Wahrnehmung der Situation und zuvor erlebte Erfahrungen spielen dabei eine große Rolle. Allostatistische Last entsteht bei inadäquater, Über-, oder Inaktivität der physiologischen Adaptationsmechanismen (Disstress). Bei hochfrequenter oder ununterbrochener Stressantwort kann es zu allostatistischer Überlastung kommen (141).

Diathese-Stress-Modell:

Ein in der klinischen Psychologie und Psychiatrie weit verbreitetes Modell, welches die Allostatistische Last, oder Stresslast, und das Risiko auf allostatistische Überlastung gegenüberstellt, ist das Diathese- Stress Modell. Es wird zur Darstellung der Pathogenese einiger psychischer Krankheiten herangezogen.

Diathese oder Vulnerabilität bezeichnet die Verwundbarkeit oder Disposition zu erkranken.



Die Diathese ist nicht bei jedem gleich ausgeprägt und ist abhängig von der Resilienz eines Individuums, also das Zugreifen-Können auf adäquate Ressourcen und gelernte Coping-Mechanismen, um gegebene Ansprüche zu bewältigen.

Abbildung 7 Diathese-Stress Modell
CC by "Iroqu" wikipedia

Laut dieser Theorie erhöhen Stressoren, wenn sie eine individuelle Schwelle überschreiten, die Vulnerabilität einer Person. Unterhalb dieser Schwelle findet eine funktionelle Stressantwort und Bewältigung statt, darüber kommt es zu Distress. Die Vulnerabilität kann durch Ressourcenbildung und Vermeidung von zu starken Stressoren verringert werden (142).

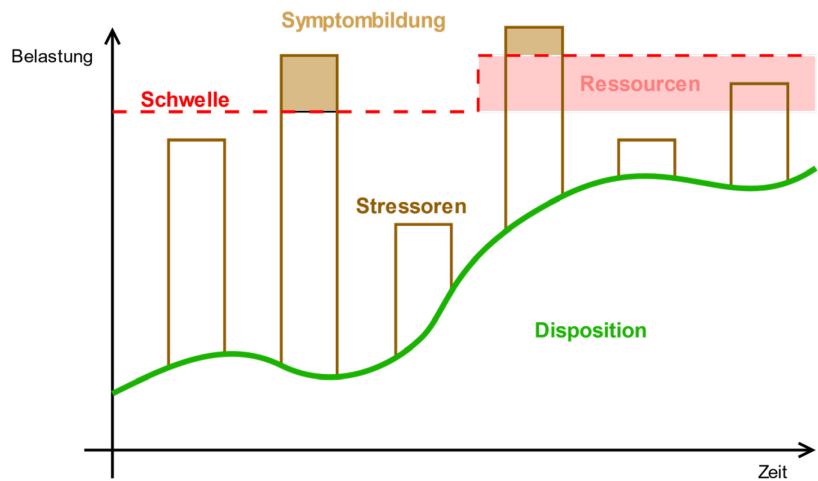


Abbildung 8 Diathese-Stress Modell

CC by „Iroqu“ wikipedia

Ressourcen:

Sowohl Stressoren als auch die Ressourcen, um Stress zu überstehen, können auf biologischer, sozialer und psychologischer Ebene beschrieben werden. Bei den Ressourcen kann man auch noch die spirituelle Ebene miteinbeziehen.

Eine biologische Ressource ist die körperliche Fitness. Sie führt zu einer optimierten Stressreaktion und wird von Silverman und Deuster als einer der besten Indikatoren für Resilienz gesehen (143). Sie geht auch mit erhöhtem Vagotonus einher.

Psychische Widerstandsfähigkeit wird durch eine optimistische Haltung (144) und Selbstwirksamkeit (145) verbessert. Die benötigte Handlungskompetenz steht eng in Verbindung mit Selbstkontrolle und wird auch durch einen gegebenen Kohärenzsinn verbessert. Der Kohärenzsinn geht auf das Modell der Salutogenese von Antonovsky zurück. Die Salutogenese beschreibt, im Gegensatz zur Pathogenese, gesundheitserhaltende Faktoren. Um mit fordernden Situationen zurechtzukommen gibt es situationsspezifische Coping-Mechanismen und generelle Widerstandsressourcen, welche Antonovsky im Kohärenzsinn zusammenfasst. Diese sieht er in Verstehbarkeit, Handhabbarkeit und Sinnhaftigkeit des Lebens eines Individuums (146).

Unangenehme soziale Verhältnisse begünstigen die Ausbildung von starken Stressreaktionen sehr. Bekommt ein Individuum gute soziale Unterstützung, so verringert sich das Ausmaß an

Stressüberlastung, der sich ein Individuum exponiert. Kommt es allerdings doch zu hoher Stressbelastung, so sind die Symptome und gesundheitlichen Folgen viel geringer ausgeprägt (147). Auch andere sozial zu unterstützen, kann die eigene Stressantwort verringern (148).

Stress und Vegetatives Nervensystem:

Die Stressreaktion geht im Sinne der Alarmreaktion initial mit einer Aktivierung des Sympathikus und der HPA Achse einher. Auch der Parasympathikus kann dabei je nach Grundaktivität initial aktiviert werden. Bei der Ausbildung von Resistenz oder dem Abnehmen des Stressors nimmt die Sympathikus- und HPA-Aktivierung wieder ab. Bei chronischer Stressüberlastung funktioniert aufgrund der Änderung der Glukokortikoid-Rezeptor-Konstellation im Hypothalamus und einer dauerhaft erhöhten Sympathikus-Aktivität (diese korrelieren (149)) die inhibitorische Kontrolle nicht mehr und es kann keine gesunde Reaktion ablaufen. Diese Komponente ist weitreichend bekannt.

Das parasympathische Nervensystem hat eine regulierende Funktion, wie in letzter Zeit demonstriert wurde. Viele Studien zeigen eine nicht signifikante negative Korrelation zwischen HRV (vagale Aktivität) und Kortisolspiegeln in der akuten Stressantwort. Pulpulos et al. berücksichtigten in ihrer Studie die Abläufe in der Erwartung auf einen Stressor. Sie entdeckten, dass bei Individuen, deren vagale Aktivität bei verursachtem Erwartungsstress sinkt, die Kortisolantwort auf einen Stressor signifikant stärker ausfällt und der darauffolgende Kortisol-Rückgang abnimmt (150). Das deckt sich auch mit den Erkenntnissen im Allostase-Stress-Modell, in welchem die Bedeutung der Erwartung an einen Stressor aufgezeigt wird. Diese Erwartung kann sogar selbst eine Stressreaktion verursachen (Typ 2 Reaktion).

Roos et al. zeigten damit einhergehend: „Höherer Parasympathikotonus verbessert die inhibitorische Kontrolle der Stressantwort und eine ausgeprägte Reaktivität des Parasympathikus schützt vor negativen Effekten von Stress auf die inhibitorische Kontrolle der Stressantwort“ (151), wie sie oben im Zusammenhang mit chronischer Stressbelastung beschrieben wurde.

Es zeichnet sich also eine klare Rolle des Parasympathikus bei der Stressreaktion ab.

Wie schon beim Thema Ressourcen (zur Resilienz-Steigerung) erwähnt, erhöht körperliche Fitness die Stressresistenz. Möglicherweise ist dies durch einen erhöhten Vagotonus, wie bei Sportlern üblich, bedingt. Die vagale Aktivität wurde aufgrund des Ergebnisses einer kleinen Studie (n=14) bereits als Parameter für physische und psychische Resilienz vorgeschlagen

(152). Sie hat eine Funktion bei der inhibitorischen Kontrolle der HPA Aktivität, umgekehrt allerdings wird bei sehr starker HPA Stimulation die Aktivität des Vagus gehemmt (153).

De Loof et al. kamen kürzlich in ihrem Review zu dem Schluss, dass langzeitige Stressbelastung, oft arbeitsbedingt, zu einer Hemmung des Vagus und einer Erhöhung des Sympathikus führt. Ihre Theorie, dass dieser Effekt bei Burnout-Patient*innen stärker auftritt als bei anderen chronisch stressexponierten Proband*innen, konnten sie interessanterweise nicht bestätigen (154, 155).

Die Stressreaktion lässt sich also auf Ebene des vegetativen Nervensystems folgendermaßen zusammenfassen: Die Erwartungsphase, falls sie stattfindet, ist entscheidend und kann für sich schon zu einer Stressreaktion führen. Als Reaktion auf einen Stressor, kommt es initial zu einer erhöhten Sympathikus- und Vagus-Aktivität (vom Grundtonus abhängig), die mit HPA-Aktivierung und später möglicher Parasympathikus-Inhibition einhergeht. Der Parasympathikus ist wichtig, damit diese Reaktion nicht unkontrolliert stattfindet und es danach wieder zu Regeneration kommen kann. Bei chronischer Stressüberlastung nimmt die Vagus-Aktivität dauerhaft ab und die Aktivität des Sympathikus zu, was zusammen mit einer Änderung im Hypothalamus zu einem unregulierten Stressablauf führt. Die Folge ist mangelnde Regeneration und abhängig vom Vorhandensein anderer Ressourcen kann es zum Bournout-Syndrom kommen. Die Stressüberlastung kann auch zu einer Vervielfachung zirkadianer Rhythmen führen.

Bildliche Darstellungen von Messungen des vegetativen Status bei unterschiedlichen Belastungssituationen werden im Methodenteil gezeigt (*Abbildung 21* und *Abbildung 23*).

Schlaf

Schlafarchitektur:

Unser täglicher Schlaf unterliegt einem getakteten periodischen Verlauf. Die 5-6 Perioden, welche wir jede Nacht durchleben, nennt man auch Schlaf- oder BRAC-Zyklen (Basic rest activity cycle) und sie setzen sich aus abwechselnden REM- (rapid eye movement) und NREM-Phasen (non- rapid eye movement) zusammen. Deren Verlauf steht in Zusammenhang mit der Aktivität aminergener (NREM) und cholinergener (REM) Neurone im Stammhirn (Siehe Abb. 10, Aktivität des Vegetativums im Schlaf).

Die Dauer der REM-Phasen nimmt im Schlafverlauf zu und beträgt 10- 50 Minuten. Neben Augenbewegungen nimmt auch die Herz- und Atemfrequenz zu, was mit einer Hirndurchblutung über das Maß des Wachzustandes einhergeht. Es werden hier emotionale Gedächtnisinhalte verarbeitet und gespeichert, weshalb diese Phase durch Lernen am Tag verlängert wird. In der REM- Phase, vor allem der späteren BRAC-Zyklen, finden lebhaftere Träume als im restlichen Schlaf statt. Zum eigenen Schutz tritt dabei eine Hemmung der Motoneurone und somit eine Atonie der Skelettmuskulatur auf, was sich in der Abbildung 9 an geringer EMG Aktivität zeigt. Das Aufwachen erfolgt im Idealfall in Anschluss an die letzte REM-Phase.

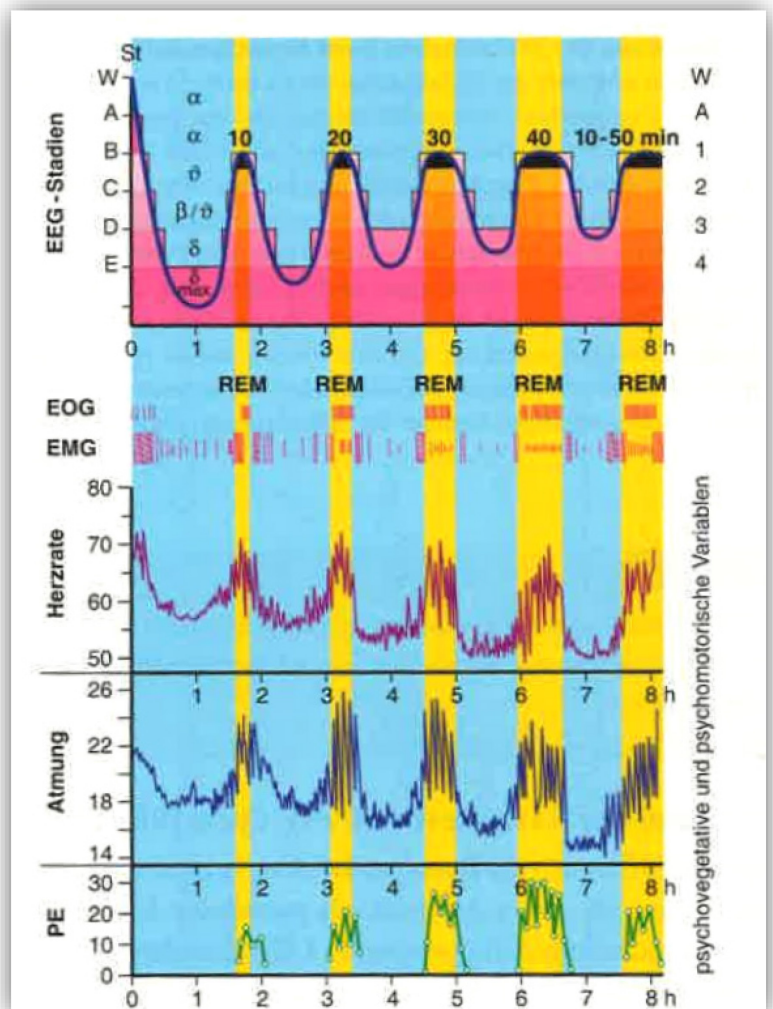


Abbildung 9 Schlafphasen
aus Neurophysiologie Schmidt, Schaible

Der Schlaf ist in Stadien, welche die Tiefegrade darstellen und sich in unterschiedlichen Amplituden und Frequenzen im EEG (β -, θ -, und δ -Wellen) präsentieren, gegliedert. Dabei steht nach Kleitman et al. kurz: W für „Wachsein“, A für „Übergang Wachsein-Einschlafen“ und 1-4 für leichten bis tiefen Schlaf (156). Es gibt eine andere Einteilung wonach diese Stadien mit A-F gekennzeichnet werden. Im NREM- Schlaf findet ein periodisch übergehender Verlauf zwischen leichten und tiefen Schlafphasen (auch „*slow wave sleep*“) statt, welcher in Stadium 1 in jedem Zyklus von einer REM-Phase unterbrochen wird. Zu Beginn des längeren Schlafes wird in den NREM Phasen noch Stadium IV (δ -Wellen im EEG) erreicht, im Verlauf wird der Schlaf allerdings immer leichter. Im Tiefschlaf sind Stoffwechsel und Durchblutung reduziert und das Immunsystem aktiv, es findet Regeneration statt. Deshalb sind die ersten beiden Schlafzyklen, in denen oft das Stadium IV erreicht wird, die wichtigsten und werden auch als „Kernschlaf“ bezeichnet (64).

Der gesamte BRAC-Zyklus dauert im Mittel 90 Minuten (75-120 min) und setzt sich auch außerhalb des Schlafes in der Wachphase fort, weshalb Schlafforschung nicht nur in der Nacht, sondern auch am Tag stattfindet und die Taktung unserer täglichen Aktivität die Schlafarchitektur beeinflusst.

Für die Regulation der Schlafrhythmik spielt der Ncl. suprachiasmaticus (NSC) eine entscheidende Rolle. Er steuert oszillierend die Tag-Nacht-Rhythmik durch Veränderung in seiner Erregbarkeit, allerdings käme es dadurch zu einer spontanen Tages-Periode von 25-26 Stunden. Das wird durch die „Clock- Gene“ für deren Entdeckung Hall, Rosbash und Young 2017 den Nobelpreis verliehen bekamen, vermittelt (157). Durch die Perzeption des externen Zeitgebers Licht, über Ganglienzellen der Retina, welche auf den NSC projizieren, kommt es

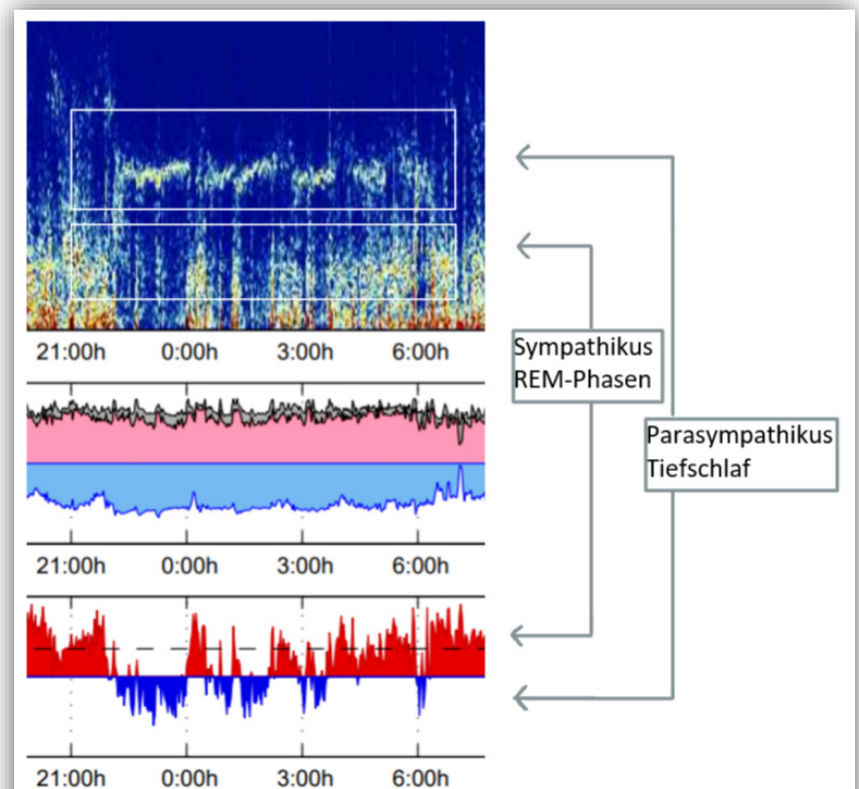


Abbildung 10, Aktivität des Vegetativums im Schlaf

Aus einer Messung im Rahmen der Studie

schließlich zu einem 24 Stunden Rhythmus (63) und entsprechender Melatonin-Ausschüttung bei Dunkelheit.

Betrachtet man die Veränderung der Schlafarchitektur (beim Gesunden) über das Leben hinweg, so fallen vor allem Veränderungen der Schlafdauer und des REM-Anteils auf. In den ersten 24 Lebensmonaten sinkt die Schlafdauer etwa von 16 auf 12 Stunden pro Tag ab. Innerhalb der nächsten 10 Lebensjahre sinkt die Schlafdauer dann auf etwa 10,5 Tagesstunden und Jugendliche (14-18a) brauchen schließlich ca. 8,5 Stunden Schlaf. Aufgrund der sinkenden Melatonin-Spiegel, sinkt auch die Schlafdauer schließlich kontinuierlich ab und beträgt im Alter von 50-90 Jahren 6-7 Stunden (was wahrscheinlich nicht physiologisch ist (158)- siehe Kapitel Melatonin). Was den Anteil der REM-Phasen angeht, so ist dieser in den ersten Lebensmonaten zugunsten der noch ablaufenden Gehirnentwicklung besonders hoch (anfangs 50%) und hält sich ab dem 3.-5. Lebensjahr bei etwa 20% (63).

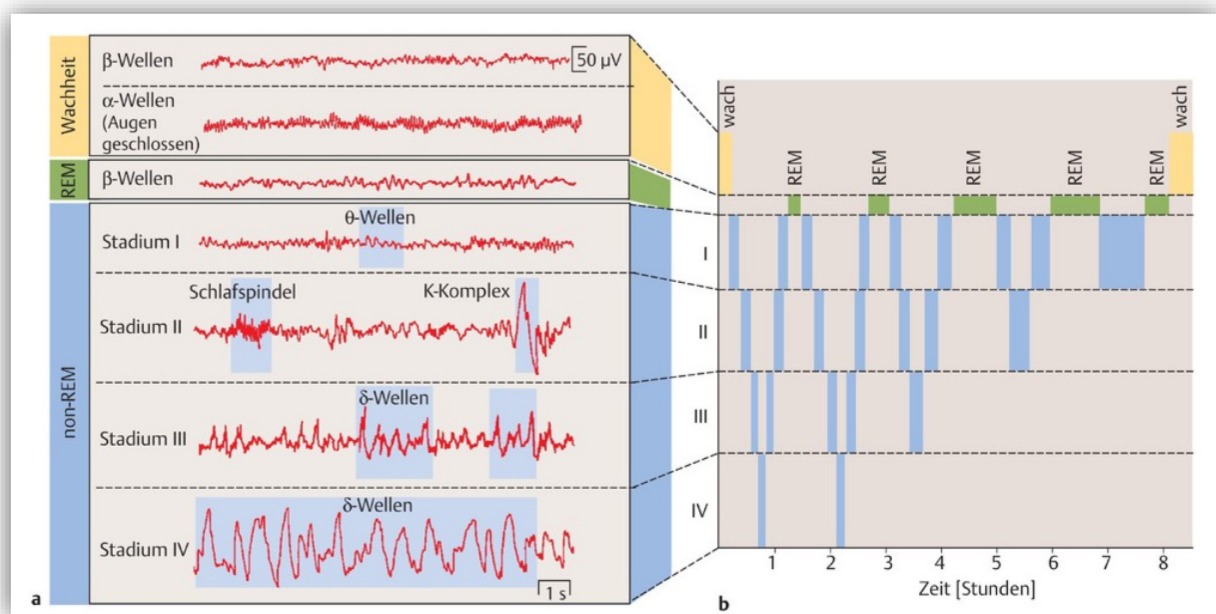


Abbildung 11 Schlafstadien und EEG
aus Physiologie Duale Reihe; Behrends; Thieme Verlag

Melatonin:

Melatonin und Licht:

Melatonin ist ein omnipräsentes Hormon, es wird von fast allen Tier- und Pflanzenarten gebildet. Im Menschen wird der größte Teil in der Glandula pinealis (oder Epiphyse) synthetisiert und lichtabhängig in einer zirkadianen Rhythmik ausgeschüttet. Die Spiegel beginnen bei Dunkelheit ab 9-10 Uhr abends zu steigen und erreichen zu Mitternacht ihren Höhepunkt, danach kommt es zu einem langsamen Absinken. Melatonin wirkt entspannend und ermüdend, es reduziert die REM-Latenz und erhöht die Schlafqualität. Im ganzen Körper befinden sich Melatonin-Rezeptoren, womit dieses Hormon die Gewebe abhängig vom Tag-Nacht-Rhythmus stimuliert und somit deren zirkadiane Rhythmen synchronisiert (159, 160), was für eine effiziente Funktion notwendig ist. Die Verabreichung von Melatonin kann bei Schlafstörungen oder einem Jetlag eine sehr hilfreiche Therapie sein (161), wobei dies entsprechend der natürlichen Spiegel abends geschehen soll.

Untertags wird die Ausschüttung von Melatonin durch das Vorhandensein von Licht gehemmt. Dieses wird mit Hilfe des Pigmentes Melanopsin von den Ganglienzellen der Retina perzipiert, deren Signale, wie zuvor schon beschrieben, über den Ncl. suprachiasmaticus zur Epiphyse projizieren. Um genau zu sein ist es der blaue Lichtanteil, im Wellenlängenbereich von 460-480nm, auf den diese Zellen empfindlich sind. Rotes Licht hat keinen Einfluss auf die Melatonin-Ausschüttung (162).

Das Licht, welches von LED und technischen Geräten emittiert wird, hat im Gegensatz zu natürlichen Lichtquellen normalerweise kein kontinuierliches, sondern ein kammförmiges Lichtspektrum, welches sich aus einer geringen Breite des Wellenlängenbereiches grünen, blauen und roten Lichts zusammensetzt. Die unterschiedlichen Farben werden hierbei durch Wellenüberlagerung (additive Farbmischung) erzeugt (siehe *Abbildung 12*). Um ähnliche Lichtintensitäten wie durch natürliche Quellen zu erreichen, muss also bei dieser Art von Licht in den zur Verfügung stehenden Wellenbereichen eine viel höhere Intensität ausgestrahlt werden. Bzw. bei geringer Lichtintensität ist die Intensität blauen Lichtes im Bereich von 460-480nm immer noch relativ hoch und verhindert bei exponierten Individuen die Ausschüttung von Melatonin. Um maximale Melatoninspiegel zu erreichen ist völlige Finsternis nötig, generell wirken sich bereits kleine Lichtmengen auf die Ausschüttung aus. Phillips et al. zeigten kürzlich in einer ausführlichen Studie die Wirkung von Licht (Breitspektrum mit Maximum bei

550nm) unterschiedlicher Intensitäten auf die Melatonin-Ausschüttung (163). Die Proband*innen (n=56) wurden zu 6-7 Wochen strukturiertem Schlaf angewiesen und wurden zu mehreren Zeitpunkten über einen Zeitraum von 5h (ab 4h vor Schlafzeit) unterschiedlichen Lichtquellen exponiert. Im Mittel führte eine Lichtintensität von 24,6 lux zu einer Halbierung der Melatonin-Spiegel, wobei es große interindividuelle Unterschiede gab. Die Extreme waren eine Halbierung der Spiegel bei 6 lux und bei 350 lux. Bei 10, 30 und 50lux wurden die Melatonin-Spiegel im Vergleich zu einer Bestrahlung mit 1 lux (erste Woche) im Mittel um 22, 77 und 109 Minuten verzögert. Um sich darunter etwas vorstellen zu können: Eine Lichtstärke von 30 lux unterschreitet eine normale Haushaltsbeleuchtung, oder Monitorlicht.

Heutzutage ist die Lichtexposition zum einen aufgrund von unseren Gewohnheiten (Monitore in der Nacht) und zum anderen aufgrund von Lichtverschmutzung, vor allem im urbanen Raum, stark erhöht, was sich auf die Melatonin-Spiegel und den Schlaf auswirkt. Das zeigt unter anderem sehr klar eine einzigartige Studie, welche Arbeiter*innen einer Kautschuk-Plantage im Amazonas mit und ohne Zugang zu elektrischem Licht vergleicht (164).

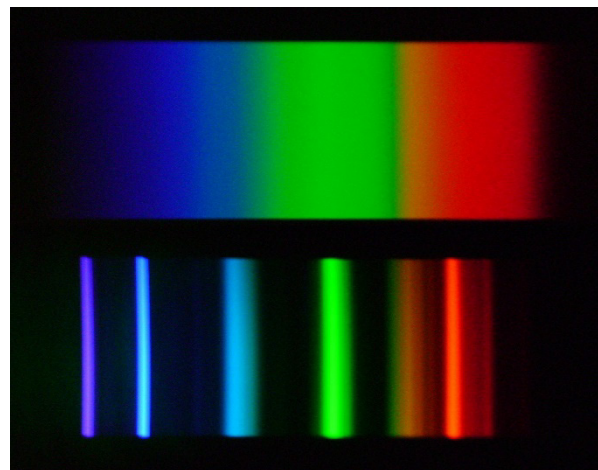


Abbildung 12: kontinuierliches Spektrum einer 60W Glühlampe und kammförmiges Spektrum einer 12W Energiesparlampe;
Quelle: Human Research Institute

Andere Einflussfaktoren auf die Melatoninausschüttung:

Alkohol: Moderater Alkoholkonsum reduziert die nächtliche Melatoninausschüttung unmittelbar. In einer Studie mit männl. Probanden führte ein Äquivalent von 3L Bier über mehrere Stunden zu 20% weniger MT (165). Bei chronischem Konsum kann es zu einer Störung der zirkadianen Rhythmik mit Ausschüttung auch untertags kommen (166).

Koffein: Es hemmt die Melatonin-Synthese durch Hemmung der Adenosin-2- Rezeptoren in der Epiphyse, was zu kürzerem Schlaf geringerer Qualität führt (167-169). Eine Studie an älteren Proband*innen (n=162; ØAlter= 72,25±6,73a) zeigte langfristige Effekte. Bei kumulativem Konsum von Kaffee höher als 60 Tassenjahre (z.B. 60 Jahre ca. 1 Tasse Kaffee

wöchentlich) wurde eine Verringerung des Epiphysen-Volumens von 20% im Vergleich zu Proband*innen mit geringerem Konsum gemessen, was mit schlechterer Schlafqualität korrelierte (170)

Pharmaka: Über die Blockade von adrenergen β 1-Rezeptoren in der Epiphyse hemmen Propranolol und Atenolol die Ausschüttung von Melatonin sehr stark (171), was mit Schlafstörungen als Nebenwirkung einhergehen kann. Der Schlaf kann in diesen Patient*innen durch die zusätzliche Verabreichung von Melatonin verbessert werden (172). Auch NO-Donatoren hemmen die Melatonin-Synthese (173).

Alter: Es herrscht seit längerem die Erkenntnis, dass im höheren Alter die Melatonin-Produktion abnimmt, wie in mehreren Studien gezeigt wurde (174, 175). Damit wird auch die „senile Bettflucht“ (Erwachen früh am Morgen) begründet und man findet in mikroskopischen Präparaten der Epiphyse alter Menschen typischerweise degenerative Verkalkungen („Hirnsand“). Es gibt allerdings auch eine Studie in der nur gesunde Individuen, ohne Medikamenteneinnahme (65-81a, n=34; 18-30a, n=98) einbezogen wurden, welche keine Unterschiede der Spiegel (zu mehreren Tageszeiten) zwischen Jung und Alt zeigt (158). Das wirft die Möglichkeit auf, dass andere Effekte entscheidend sind und Alter per se keine Verringerung der Melatonin-Ausschüttung bedeutet.

Ein Mangel an Melatonin kann mit Hilfe von Metaboliten im Morgenharn einfach diagnostiziert und mit Melatonin-Supplementen behandelt werden.

Melatonin, oxidativer Stress und Schlaf:

Der mitochondriale Stoffwechsel und die Bildung von ROS im Organismus unterliegen einer zirkadianen Rhythmik. Viele mitochondriale Prozesse sind an die Expression der Uhren-Gene (clock genes) gekoppelt (176). Ich möchte auf zwei kürzlich erschienene Studien, welche molekulare Mechanismen aufzeigen, eingehen:

Laothamatas et al. haben in den Leberzellen von Mäusen entdeckt, dass das mitochondriale NOC-Protein ein wichtiger Regulator des oxidativen Zustandes in Zellen ist, indem es die NADPH Phosphatase moduliert. Bei erhöhter Aktivität wird OS reduziert. Sie beobachteten, dass die Aktivität des Proteins, aufgrund seiner an Uhren-Gene gekoppelten Genexpression, einer zirkadianen Rhythmik mit ihrer Akrophase (Maximum) mitten in der Nacht/Schlafphase der Mäuse unterlag (177).

Kempf et al beschäftigten sich bei Versuchen an Fruchtfliegen mit einem Neuronenkomplex, dem sogenannten „dorsalen fächerförmigen Körper“ (“dorsal fan-shaped body“), dessen Depolarisierung zur Schlafinduktion führt. Sie stellten fest, dass zum Einschlafen ein gewisses Niveau an OS in diesen Zellen notwendig ist, weil der entscheidende Kalium-Kanal nur bei entsprechender NADPH-Konzentration aktiviert werden kann (aber er wird nicht automatisch aktiviert). Viele Versuche mit Änderung des oxidativen Zustandes (Elektroneneinfuhr in Mitochondrien erhöht, antioxidative Enzyme manipuliert, O_2^- Produktion mittels Licht nach Genmanipulation induziert) bestätigten diesen Mechanismus (178). Das erklärt auch den guten Schlaf nach einem Tag mit ausgiebiger körperlicher Betätigung (erhöhter OS).

Auch Melatonin, als wichtiger Rhythmusgeber, beeinflusst die zirkadiane Rhythmik des oxidativen Zustandes im Körper. Es stimuliert die endogene antioxidative Abwehr, konkret die Bildung und Aktivität von Glutathion-Peroxidase und Superoxid-Dismutase (179), und ist selbst ein sehr potentes Antioxidans. Jedes Molekül Melatonin kann in 4 Stufen Radikale reduzieren (180). In Anbetracht dieser Erkenntnisse sollte die Einschlafzeit idealerweise also nach Beginn des Melatonin-Anstieges und noch vor Erreichen der maximalen Melatonin-Spiegel gewählt werden, was bei Dunkelheit etwa zwischen 9 und 12 Uhr nachts ist. (Vorausgesetzt, die Beobachtungen an Fruchtfliegen treffen auch auf den Menschen zu.)

Fällt die nächtliche Senkung der Radikale durch Melatonin weg, macht sich das in erhöhtem OS bemerkbar, wie es bei Nachtarbeit der Fall ist.

Versuche an *Drosophila* zeigten eine Erhöhung von OS Markern, wenn die Schlafdauer gentechnisch verkürzt wurde, außerdem erhöhte sich das Überleben bei induzierter Verlängerung des Schlafes nach Exposition oxidativen Stresses (181).

Pavanello et al. untersuchten einige Parameter in Nachtschichtarbeiter*innen (n=142). Die Proband*innen wurden je nach Höhe von „work ability index“ (WAI) und Lungenfunktionsparametern (LFP) in Gruppen unterteilt und verglichen. Die Arbeiter*innen mit höheren WAI und LFP hatten auch eine höhere Frequenz an Nachtschichten vorzuweisen. Ihre Parameter des OS (oxidierte Nucleinsäuren, DNA Schaden aufzeigend) und ihre LTL (Leukozyten Telomer Länge, Parameter für Altern) waren ungünstiger als in den Vergleichsgruppen (OS hoch, LTL niedrig) (182). Einige Studien zeigen das erhöhte Risiko von Nachtarbeiter*innen an verschiedenen Krebsarten zu erkranken, wobei der Mangel an Melatonin als wesentlicher Mechanismus beschrieben wird (183-186). An Fruchtfliegen wurde also gezeigt, dass Schlaf durch die Senkung des OS das Überleben verbessern kann und bei

Menschen, dass ein gestörter Schlaf-Wach Rhythmus, u. a. mit OS einhergehend, das Leben verkürzt.

Vor allem auf Ebene neuropsychologischer Symptome und Verhaltensweisen in Mäusen ist die Besserung von Schlafmangel-induzierten Defiziten mittels exogener Antioxidantien vielfach nachgewiesen (187, 188). OS, bedingt durch Schlafentzug, kann durch die Verabreichung von Melatonin verringert werden (189).

Hypothesenbildung

Der gesunde Effekt von Aroniasaft ist bereits weitreichend untersucht. Von besonderem Interesse sind vielversprechende Polyphenole, welche als Antioxidantien, Immunmodulatoren und Präbiota gesehen werden können (siehe Kapitel „Aronia“). Blutwerte, Einfluss auf oxidativen Stress und das Mikrobiom werden in der ESAN II Hauptstudie in verschiedenen Testgruppen untersucht. Wenn Stressoren auf diesen Ebenen, welche in so vielen Krankheiten eine wichtige Rolle spielen, reduziert werden, ist auf Basis der Stresstheorie nach Selye eine Reaktion auf Ebene des Vegetativen Nervensystems zu erwarten (siehe Kapitel „Stress“). Verbesserte autonome Regulation und Regeneration im Schlaf wären die Folge, wobei von gesteigerter Resilienz gesprochen werden kann. Dies ist die Hypothese, welche die Basis dieser Arbeit, im Rahmen einer Nebenstudie der ESAN II, bildet (siehe Kapitel „Autonome Regulation“ und „Schlaf“).

Die hier formulierte Hypothese mittels der durchgeführten Intervention zu untermauern hat wissenschaftlichen Neuwert und könnte in Zukunft Parameter des VNS für Prognose und Monitoring weiterer Krankheiten, oder auch als Gesundheitsparameter, in ihrer Relevanz erhöhen. Die Frage, welche es in der an gesunden Probandinnen durchgeführten explorativen Studie zu beantworten gilt, lautet: Gibt es auf Ebene des VNS Hinweise auf gesteigerte Resilienz und mit welcher Parameterkonstellation zeigt sich diese in der HRV Messung? - Und:

Wie und anhand welcher Parameter kann in zukünftigen Studien der beobachtete Effekt am besten bestätigt werden?

Im Weiteren, aber nicht mehr im Rahmen dieser Diplomarbeit, wird auch die Frage zu beantworten sein: Wie korrelieren die Änderungen auf Ebene des VNS in dieser Intervention mit Effekten auf Ebene des Mikrobioms, Parametern des Oxidativen Zustandes (ROS) und auch mit Entzündungsparametern?

Mögliche HRV-Parameter-Konstellationen bei einem Effekt:

Denkbar wäre eine Erhöhung der Parameter, welche mit der Vagus-Aktivität korrelieren, was für verbesserte Regeneration sprechen würde. Der Parameter, welcher hauptsächlich die Sympathikus-Aktivität widerspiegelt (lnLF), ist schwer vorherzusagen. Wenn er initial hoch ist, wäre eine Verringerung eher ein gutes Zeichen und würde für Stressreduktion sprechen. Im Zusammenspiel mit erhöhten Vagus Parametern allerdings spricht er für „Jugendlichkeit“ und „stärkeres Schwingen des Systems“ im chronobiologischen Sinne, was mit Resilienz und Leistungsfähigkeit einhergeht. Entsprechend ähnlich verhält es sich mit der Abschätzung des vegetativen Quotienten (VQ), welcher das Verhältnis von Vagus- und Sympathikus- Aktivität angibt (siehe Methoden Teil).

Schließlich muss auch unbedingt der dynamische Tagesgang erfasst werden und somit eine chronobiologische Analyse in dieser Fragestellung erfolgen, um eine Reaktion auf VNS Ebene genau zu verstehen. Regenerationsfähigkeit im Schlaf und zirkadiane Amplitude können dabei hinweisgebend sein. Die erwähnten Parameter werden im Methoden-Teil genauer erläutert.

Methoden

Studiendesign

Die ESAN II Studie (Energy Sensing in Depression) ist eine doppelblinde Placebo- kontrollierte, randomisierte (MUG Randomizer), monozentrische, prospektive Nahrungsmittelstudie (Interventionsstudie). Im Hauptteil der Studie wurden Plasmaspiegel von Inhaltsstoffen des Aroniasaftes und ROS-Parameter erhoben. In der Nebenstudie, welche die Grundlage dieser Diplomarbeit bildet, wurden Effekte auf Ebene des VNS mit Hilfe von HRV Messungen erhoben. Dabei wurden 6 Testgruppen geplant: Je eine Verum- und eine Placebo-Gruppe übergewichtiger, depressiver und normalgewichtiger gesunder Probandinnen (je Gruppe n=20, gesamt n=120).

In diesem ersten Durchgang, der Baseline Studie, haben wir uns auf die gesunden normalgewichtigen Probandinnen beschränkt. Ein- und Ausschlusskriterien gestalteten sich dabei wie folgt:

Einschlusskriterien:

- Geschlecht: weiblich
- Alter: 18-40 Jahre
- BMI: 18,5- 24,99 kg/m² (normalgewichtig)

Ausschlusskriterien:

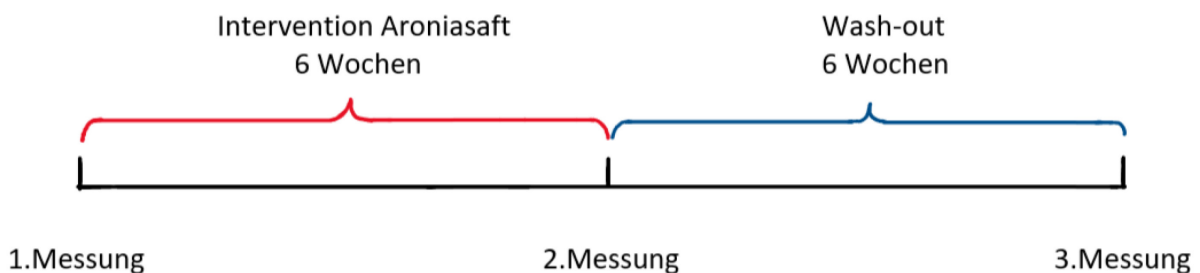
- Fettstoffwechselstörung (z.B. Hypertriglyceridämie, Hypercholesterinämie)
- Diabetes Mellitus
- Bariatrische Operationen
- Spezielle Diät
- Alkohol- oder Drogenmissbrauch

- Akute Erkrankung
- Antibiotikaeinnahme in den letzten 4 Wochen vor Studienstart
- Erkrankungen des Magen- Darm- Traktes
- Bluterkrankungen
- Bekannte Erkrankungen des Immunsystems
- Bekannte psychische Erkrankungen
- Bekannte Hormonerkrankungen
- Schwangerschaft und Stillzeit
- Fruktose- Intoleranz und andere Lebensmittelunverträglichkeiten

Die Rekrutierung der Probandinnen erfolgte unter Studierenden an den Grazer Universitäten, über „Social Media“ und mit Hilfe einer Proband*innen Rekrutierungs Firma.

Die Verum-Gruppe erhielt einen regional produzierten Aroniasaft und die Placebo Gruppe einen polyphenolfreien Saft, welcher dem übrigen Nährstoffprofil des Saftes entsprach. Beide hatten einen „weinartigen“ Geschmack. Die Studienteilnehmerinnen wurden mittels Probandinnen-Code anonymisiert (erste Ziffer für den Messdurchgang und zweite und dritte Ziffer für die Probandin).

Ablauf und Parameter:



In der 6 Wochen dauernden Interventionsphase nahmen die Probandinnen täglich 2 Mal 100ml des Saftes zu sich (morgens und abends). Darauf folgte eine 6-wöchige „Wash-out“-Phase, in der kein Aroniasaft getrunken werden durfte.

Zu den 3 Messzeitpunkten wurden folgende Daten (+die der Hauptstudie) erhoben:

- 28h- EKG Messung mittels „Chronocord“ Geräten
- Tätigkeitsprotokolle (zur Absicherung bei HRV Auswertung)
- Fragebögen (Stimmung und Schlaf)
- Weitere Proben (Blut, Stuhl, etc.) und Messungen (Anthropometrie, Ernährungs- und Stuhlprotokolle) im Rahmen anderer Bereiche der ESAN II Studie.

Messwiederholungen und Ausfälle:

	Messwiederholung (Messungsnummer)	Nach x Tagen	Keine Messung (Probandinnen ID)
1. Durchgang	120	7	<i>Keine Ausfälle in diesem Durchgang</i>
	110	1	
2. Durchgang	215	2	028
	227	3	032
	234	1	038
3. Durchgang	<i>Keine Messwiederholung in diesem Durchgang</i>		001
			040

Table 3: Messwiederholungen und Ausfälle

Dropouts:

Probandin	Grund
028	Keine Messungen nach der Intervention
032	
038	

Table 4: Dropouts

Bei den Probandinnen 001 und 040 entfiel die dritte Messung, also die Untersuchung auf langfristige Effekte der Intervention, für die Betrachtung kurzfristiger Wirkung konnten sie allerdings durchaus berücksichtigt werden und sind deshalb keine Dropouts.

Probandinnen, welche bereits beim zweiten Messdurchgang wegfielen, mussten ausgeschlossen werden. Das Resultat waren 3 Dropouts und je Gruppe 18 bzw. 19 Probandinnen, welche in der Analyse berücksichtigt werden konnten.

Vermeidung von Störgrößen:

In Anbetracht des Faktors Gruppengröße, wurde ganz besonders auf die Vermeidung von Störgrößen geachtet, soweit möglich. Dazu dienten unter anderem die Tätigkeits- und

Schlaffragebögen, außerdem wurden die Probandinnen zu Beginn jedes Messdurchgangs ausführlich aufgeklärt und sie bekamen eine kurze schriftliche Zusammenfassung zum Nachlesen (siehe Anhang). Sie wurden gebeten folgendes zu vermeiden:

- Abendlicher Alkoholkonsum
- Übermäßige körperliche Betätigung/Sport
- Helles Monitorlicht eine Stunde vor dem Schlafen
- Übermäßiger Konsum koffeinhaltiger Getränke

Bereits moderater Alkoholkonsum stört die Schlafarchitektur und nächtliche Erholung erheblich (165, 190) und wäre Grund gewesen, eine Messung zu wiederholen.

Sport während eines Analyseintervalls wurde weitgehend vermieden, um ein Abweichen der durchschnittlichen Herzfrequenz und anderer Werte gering zu halten. Eine intensive Sporteinheit kann sich auch auf den Schlaf auswirken und die entsprechenden Messwerte beeinflussen.

Die Wirkung von Licht mit hohem Anteil an Blauwellen auf die Melatonin-Ausschüttung und die damit einhergehende REM- Latenz wurden im Kapitel „Schlaf“ ausführlich erläutert.

Auch der Einfluss von ungewohntem Konsum koffeinhaltiger Getränke auf Schlaf und Energiehaushalt sollte vermieden werden.

Bei Nichteinhalten der erwähnten Punkte wurde eine Notiz im Protokoll erbeten, um im Falle von Monitorlicht oder sportlicher Betätigung im nächsten Messdurchgang ähnliche Bedingungen planen zu können und vergleichbare Messungen zu erhalten.

Des Weiteren wurden die Probandinnen gebeten sich bei allen 3 Messungen an gewohnte Schlafbedingungen und -zeiten zu halten.

Um die Protokollführung und Kooperation der Probandinnen zu verbessern, wurde ihnen angeboten, die Messungen nach Ablauf der Studie gemeinsam zu besprechen und ggf. beratend zu Verfügung zu stehen. Die Qualität der erhaltenen Messungen war tatsächlich sehr hoch und mögliche Störgrößen, wie Erkältungen und Schlafabweichungen, hielten sich in Grenzen.

Tätigkeit im Rahmen der Diplomarbeit

Im Rahmen dieser Diplomarbeit lag der Fokus auf den EKG- bzw. Herzratenvariabilitätsmessungen (HRV). Damit in Zusammenhang wurden Tätigkeitsprotokolle erhoben, um Aktivitäten in den angedachten Analyseintervallen nachvollziehen zu können. Es wurde auch die subjektive Schlafqualität der Probandinnen beachtet, welche stark in Zusammenhang mit der Aktivität des VNS steht. Stimmungsfragebögen wurden von den Probandinnen vor dem Schlafengehen ausgefüllt und Schlafragebögen nach dem Aufstehen (Fragebögen siehe Anhang). In jedem Durchgang wurden die Probandinnen über die Vermeidung oben angeführter Störgrößen aufgeklärt.

Es wurden insgesamt etwa 120 28h-HRV Messungen durchgeführt und online im „Chronobase“-Server der „Joysys GesmbH“ über das „Human Research Institute“, welches auch die 21 eingesetzten Geräte zur Verfügung gestellt hatte, ausgewertet. Die ausgefüllten Protokolle und Fragebögen wurden zur weiteren Analyse durch manuelle Eingabe digitalisiert. Bei fehlerhaften Messungen, z.B. aufgrund einer abgelösten Elektrode und auch bei zu unregelmäßigen Tagesabläufen (nur einmal aufgrund sehr stark abweichender Schlafzeit) wurden die Messungen wiederholt.

Nach Beendigung der Messungen wurden zur genaueren Analyse Tag- und Schlaf- Werte der 28h-Messungen berechnet. Die hier erhaltenen Werte konnten schließlich statistisch ausgewertet werden.

Nach Abschluss der Studienarbeit wurde den Probandinnen eine Besprechung ihrer Werte und gegebenenfalls eine Beratung angeboten. Folgende Parameter, auf die im Weiteren noch genauer eingegangen wird, wurden erhoben und statistisch ausgewertet:

- SDNN: Ausmaß der Herzratenvariabilität
- lnLF: Sympathikusaktivität
- lnHF: Parasympathikusaktivität
- logRSA: Parasympathikusaktivität
- lnTot: Intensität aller Frequenzbänder
- Herzrate (HR)
- VQ: Vegetativer Quotient
- QPA: Puls-Atem-Quotient (nur im Schlaf)
- SQ: Vegetative Schlafqualität

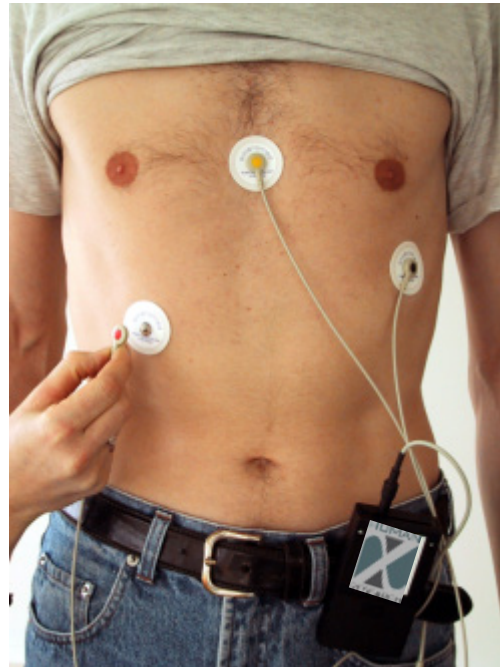
Material

Das HRV Messgerät:



Abbildung 13: Das HRV Messgerät

Quelle: Human Research Institut



Wir haben „ChronoCord®“ Geräte, welche vom „Human Research Institute“ entwickelt und für die Studie zur Verfügung gestellt worden waren, verwendet. Diese bestehen aus einem unscheinbaren rechteckigen Kästchen, einem Kabel und 3 Druckknöpfen, über die das Gerät mit den Elektroden verbunden ist. Das „ChronoCord“ ist ein mobiles Gerät und kann mit Hilfe eines Klemmbügels an der Kleidung festgemacht werden. Es kommt dabei im Alltag zu keiner Behinderung. Am Kästchen befindet sich ein schwarzer Druckknopf zum Ein- und Ausschalten und ein blauer Knopf, mit dem eine Markierung in der Messung gesetzt werden kann.

Die eingesetzten Geräte waren „ChronoCords“ der siebten Generation mit einer Abtastrate der R-Zacken im EKG von 8000MHz und einer Datenauflösung von 16Bit. Damit ist eine sehr genaue Messung der R-R-Intervalle möglich, womit kleinste Veränderungen in der Dauer dieser Intervalle eruiert werden können und eine hochauflösende Darstellung der Aufnahme im Chronocardiogramm (siehe unten) möglich ist. Im Gerät integriert sind außerdem Aktigraphie-Sensoren, womit Ruhephasen überprüft werden können, und eine Uhr. Die Geräte werden mit einer 3,6V AA Lithium Batterie betrieben, welche für vier 28h- Messungen einsetzbar ist. Diese hohe Batterie-Spannung trägt zu einer höheren Messsensibilität bei.

Software:

4 Programme werden bei der Arbeit mit den ChronoCardiogrammen benötigt.

- 1) ChronoCordTools: Zur Änderung von Geräteeinstellungen und dem Hochladen der Messdateien
- 2) ProtocolEditor: Zur Digitalisierung der Tätigkeitsprotokolle
- 3) FIFreader: Zur Detailanalyse der Herzrate (fif-Datei)
- 4) EDFreader: Zur Detailanalyse des EKG (z. B.: Überprüfung auf Extrasystolen) und der Akzelerometrie (=Bewegungsmessung) (edf-Datei)

Herzratenvariabilität

Die Herzratenvariabilität (HRV) beschreibt eigentlich eine Herzrhythmusflexibilität, was auf diesen Seiten verständlich gemacht wird.

Alle Abläufe im Körper unterliegen periodischen Rhythmen, ähnlich einer Sinuskurve. Diese rhythmischen Abläufe der unterschiedlichen Systeme sind vielfach miteinander synchronisiert, oder einander entgegengesetzt, „wie die Musiker in einem Orchester“ (139), was zu koordinierten Abläufen und einer Steigerung der Effizienz führt.

Auch auf das Herz trifft dieses Prinzip zu. Es ist mit anderen Oszillatoren gekoppelt, was zu einer Herzratenvariabilität führt. Haupteinflussgrößen sind hierbei die Atemfrequenz (respiratorische Sinusarrhythmie), der Blutdruckrhythmus und die periphere Durchblutung.

Physiologische Grundlagen

Respiratorische Sinusarrhythmie (RSA):

RSA bedeutet eine Varianz der Herzfrequenz, welche gekoppelt mit der Atmung auftritt. Die Periodendauer des Atemzyklus in Ruhe beträgt 2-7 Sekunden, es handelt sich also um eine sinusähnliche Funktion mit einer Frequenz von etwa 0,15-0,4 [s⁻¹].

Bei Inspiration kommt es zu einer Beschleunigung und bei Expiration zu einer relativen Verlangsamung der Schläge. Dieser Ablauf ist physiologisch und wird vor allem bei

Jugendlichen und Sportler*innen beobachtet. Schon im alten China wurde dies als gesundes Zeichen gewertet.

Bei der Einatmung verursacht die Dehnung der Lungen eine Hemmung der kardialen Vagus-Efferenzen, womit durch den nun überwiegenden Einfluss des Sympathikus die Herzfrequenz kurz ansteigt. Bei der Ausatmung hingegen nimmt die Vagusaktivität, bedingt durch Chemo- und Baroreflex, wieder zu, was die verringerte Herzfrequenz erklärt. Auch auf Ebene der präganglionären Vagusfasern kommt es zentral bedingt zur atemsynchronisierten Modulation. Dass die Mechanismen der RSA rein Vagus-bedingt ablaufen, zeigt sich durch den Wegfall bei Vagotomie (191).

Der physiologische Sinn der RSA ist der Erhalt eines effektiven Ventilations- Perfusions-Verhältnisses in den Lungen und somit eine effizientere Oxygenierung bei gleichem Herzminutenvolumen, wie es auch bei Versuchen an Hunden demonstriert wurde (192).

Blutdruckrhythmus:

Der arterielle Blutdruck oszilliert in einer Periodendauer von etwa 10 Sekunden, was etwas länger als die Atemperiode ist. Dabei spricht man auch von Mayer-Wellen (oder Traube-Hering-Mayer- Rhythmik). Blutdruckrhythmus und Atemrhythmus sind gekoppelt. Wenn die Spontanatmung schneller wird, wird auch der Blutdruckrhythmus schneller. Des Weiteren unterliegt der 10 Sekunden Rhythmus tageszeitlichen Schwankungen (193). Eine viel stärkere Koppelung allerdings besteht zwischen dem Blutdruckrhythmus und der efferenten sympathischen Aktivität (ESA)(194). Bei verstärkter ESA kommt es zu verstärkten Mayer Wellen, was diese zu einem Sympathikus repräsentierenden Parameter macht, welcher sich an der Herzratenvariabilität ablesen lässt. Die Blutdruckschwankung wird auf Ebene der Gefäße verursacht (Änderung des Gefäßdurchmessers). Die Schwankung der Herzfrequenz ist eine ausgleichende Reaktion und nicht Ursache.

Koordiniert wird der Blutdruckrhythmus über den Baroreflex, ausgehend von Rezeptoren im Aortenbogen. Er läuft, wenn auch etwas chaotischer, bei deaktiviertem Baroreflex (Tierversuch) immer noch (gekoppelt mit der ESA) ab. Das weist darauf hin, dass es auch einen zentralen Oszillator als Ursprung gibt (Hirnstamm, oder Rückenmark). Ganz genau ist der Mechanismus, welcher diesen Wellen zugrunde liegt, allerdings noch nicht geklärt.

Eine weitere noch offene Frage ist der physiologische Sinn des Blutdruckrhythmus. Eine Theorie ist, dass dadurch die endotheliale NO Ausschüttung getriggert wird, was positive Effekte in Endorganen haben könnte (194).

Periphere Durchblutung:

Die Aktivität der glatten Muskulatur im Körper unterliegt dem Rhythmus von einer Minute. Das betrifft auch den Gefäßtonus, weshalb es im Minutentakt zu erhöhter Durchblutung der Haut, Schleimhaut und Muskulatur kommt. Dieser Rhythmus ist zentralnervös gesteuert. Zu vermehrter Aktivität auf dieser Frequenz kommt es bei körperlicher Aktivität, es haben aber wahrscheinlich auch andere Faktoren, wie das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System Einfluss darauf. Damit ist diese Frequenz nicht einer eindeutigen Einflussgröße zuzuordnen, sie beeinflusst aber die Herzfrequenz und trägt somit zur gesamten Herzratenvariabilität bei, welche ein positiver Parameter ist.

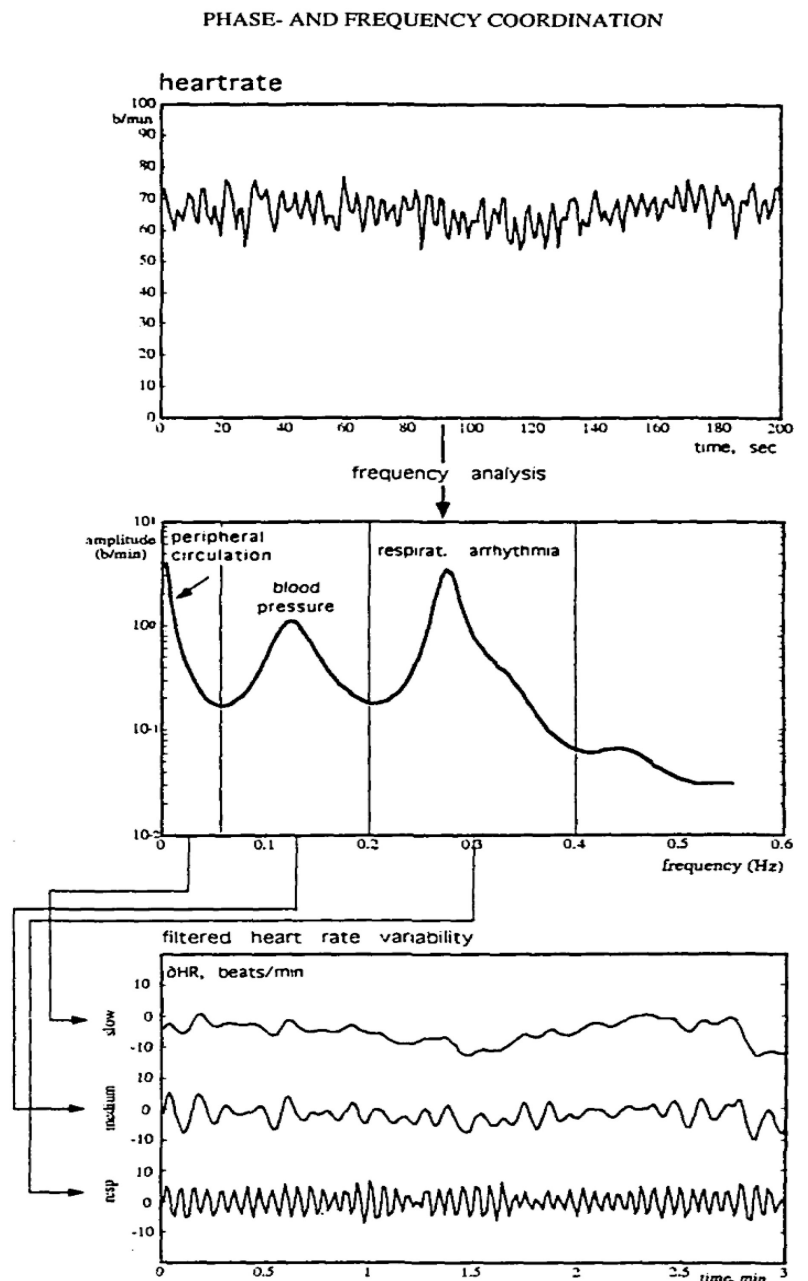


Abbildung 14: Spektralanalyse (Auftrennung) der unterschiedlichen Rhythmen, welche sich auf die Herzfrequenz auswirken und deren Einfluss sich in der gesamten Herzrhythmusflexibilität zeigt.

aus Moser et al. 1995

Analyse der Messungen

$$\hat{g}(f) = \int_{-\infty}^{+\infty} g(t) e^{-2\pi i f t} dt$$

Abbildung 15 Fourier-Transformation

Fourier-Transformation:

Die Fourier-Transformation ist eine mathematische Funktion, um aus einer Welle, die sich aus überlagerten sinusförmigen Wellen unterschiedlicher Frequenzen zusammensetzt, die Teilfrequenzen zu errechnen. Somit hat diese Methode Anwendung bei der Analyse der HRV Messungen. Es können alle Rhythmen, die sich in der HRV überlagern, isoliert und deren Intensität erhoben werden, so wie das in *Abbildung 14* gezeigt ist. Das ermöglicht es, den verhältnismäßigen Anteil von Sympathikus- und Parasympathikus-Aktivität zu errechnen und visuell darzustellen (195).

Es gibt unterschiedliche Schreibweisen und verschiedene Formen der Fourier Transformation. In einfacher Form ist sie in *Abbildung 15* dargestellt und wie sie funktioniert, soll hier vereinfacht beschrieben werden.

Ist ein Exponent eine Imaginäre Zahl (i), wie in diesem Fall, ergibt sich eine Rotation in der komplexen Ebene (gebildet durch die Achsen der reellen und der imaginären Zahlen). Ist die Basis die Eulersche Zahl (e), so entspricht die Rotation genau dem Exponenten in Radianten. Es entspricht also 2π einer 360° Rotation. Durch das negative Vorzeichen des Exponenten kommt es zu einer Rotation im Uhrzeigersinn. Diese Rotation kann in variabler Frequenz über einen variablen Zeitraum ablaufen. Multipliziert man diese Potenz mit imaginärem Exponenten mit der Funktion $g(t)$ (Funktion der uns vorliegenden Welle aus überlagerten Frequenzen), läuft $g(t)$ sozusagen rotierend in beschriebener Ebene ab. Variabel ist dabei allerdings die Frequenz, mit der sie rotiert wird. Das Besondere ist: Entspricht die Rotationsfrequenz in der Transformation einer der Schwingungsfrequenzen in $g(t)$, so überlagern sich diese und es kommt in der Ebene des von der Funktion „gezeichneten“ Graphen (daher Integraltransformation) zu einer Verschiebung des Schwerpunktes (im Vergleich zu Frequenzen in $g(f)$, welche nicht in $g(t)$ enthalten sind). Die „Schwerpunktverschiebungen“ aller Teilfrequenzen stellen sich schließlich im Graphen der Transformationsfunktion $g(f)$ als Amplituden dar. Die Transformation ist also die Funktion der

Stärke, in der eine gegebene Frequenz in $g(t)$ vorhanden ist. Theoretisch können somit alle Frequenzen, aus denen sich $g(t)$ zusammensetzt, erhalten werden.

In der Praxis wird die Funktion in unterschiedlichen abgewandelten Formen eingesetzt und es wird normalerweise ein begrenztes Zeitintervall gesetzt, in welchem das Integral gebildet wird. Es muss auch beachtet werden, ob es sich um eine kontinuierliche (wie hier beschrieben), oder eine diskrete Funktion handelt (also abgestuft in „begrenzte Signalauflösung“, wie bei den HRV Messgeräten).

Die schnelle Fourier-Transformation (fast Fourier Transformation) ist ein etwas vereinfachter Algorithmus, der die Berechnung bei einer hohen Zahl an Eingangsdaten erleichtert und somit in vielen technischen Werkzeugen Anwendung findet. Dieser Algorithmus wird auch bei der Analyse der HRV Messungen eingesetzt.

Es gibt eine inverse Fourier-Transformation zur Überlagerung von unterschiedlichen Frequenzen. Damit können Störfrequenzen aus einem Signal rausgefiltert und entfernt werden.

ChronoCardioGramm:

Das CCG ist die grafische Darstellung der HRV Analyseparameter in ihrem zeitlichen Ablauf über die Messperiode (hier 28h), wie auf der folgenden Seite an einem Beispiel zu betrachten ist. Besonders tragen das Diagramm mit den Bandenintensitäten, ganz oben im Bild, und das Tätigkeitsprotokoll, unten im Bild, zum schnellen Überblick und Verständnis der Messung bei. Auch die Diagramme zur Darstellung der vegetativen Aktivierung, der Herzfrequenz und des Puls-Atem-Quotienten können hiermit chronobiologisch interpretiert werden. Dabei fallen rhythmische und wellenförmige Aktivitätsverläufe auf und es kann zwischen den Mustern bei Wachsein und Schlaf unterschieden werden. Es zeigt sich auch die Schlafarchitektur, also der Ablauf unterschiedlicher Schlafphasen, und die vegetative Schlafqualität kann abgeschätzt werden. Es lassen sich aus dem CCG also 5 verschiedene chronobiologische Rhythmen ablesen, wie in *Abbildung 14* zusammengefasst (Atmung, Mayer-Wellen, Blutdruckrhythmus (nicht rein), Tag-Nacht-Rhythmus und BRAC-Zyklen).

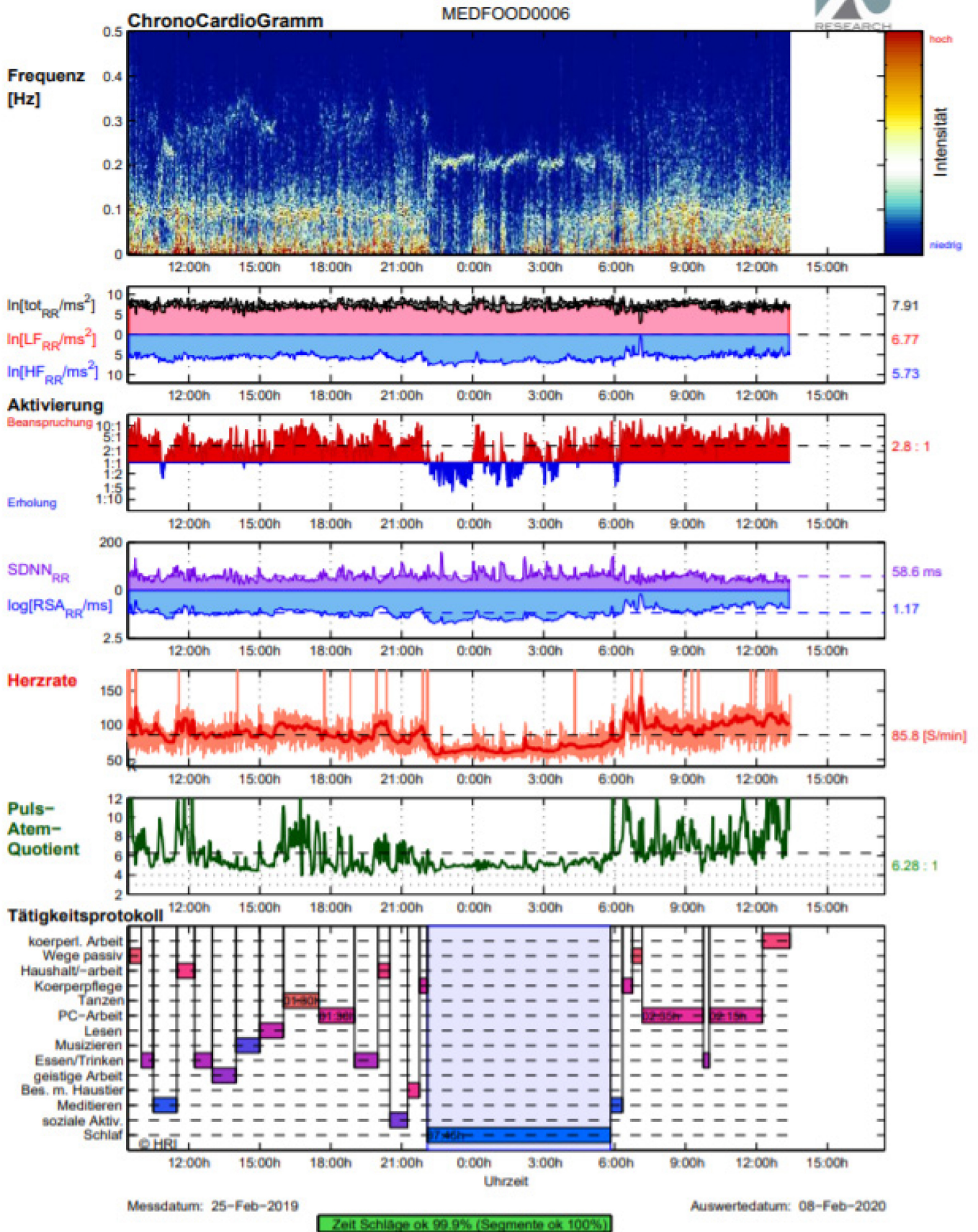


Abbildung 16: Beispielhaftes Chronocardiogramm

Gerade bei der Beurteilung des Schlafes ist die Übersicht über vegetative Aktivität, Herzrate und Puls-Atem-Quotient, bildlich aufgelistet, sehr hilfreich

Unter Rücksicht des Tätigkeitsprotokolls lassen sich Aktivitäten, wie in gezeigtem Beispiel die des Parasympathikus um etwa 10:30, besser erklären. In diesem Fall geht sie mit einer Meditation einher. Und so kann auch für die Analyse kleinerer Intervalle ein geeigneter Zeitraum gesucht werden, in dem z.B keine körperlich aktive Tätigkeit ausgeübt wird, oder in der der/die ProbandIn wach ist. Die Tätigkeiten sind im Protokoll nach Herzfrequenz sortiert angeordnet und farblich entsprechend dem VQ (Vegetativer Quotient, siehe unten) markiert, was für die deskriptive Analyse einzelner Messungen hilfreich ist. Mittels Knopfdrucks am Gerät, kann der/die Proband*in, z.B zu Beginn und Ende des Schlafes, oder bei besonderer Tätigkeit, eine Markierung setzen. Diese wird im Herzfrequenzdiagramm (*Abbildung 17*) in Form eines kleinen „K“ dargestellt. Das CCG ist bei der Durchführung der Messungen sehr hilfreich, da hier Messfehler, zum Beispiel durch Ablösung einer Elektrode während des Schlafes, deutlich in Form von Unterbrechungen und einer roten Bande ersichtlich sind. Das kann je nach Zeitpunkt und Ausmaß eine zeitnahe Messwiederholung erforderlich machen. Die Messqualität und Auswertbarkeit werden im grünen Balken ganz unten im Bild in Prozent angegeben. In diesem Fall ist sie exzellent.

Alle in der Analyse erhaltenen Werte werden mit Referenzwerten auf Basis der Daten von über 2000 Messungen verglichen und bewertet. Dabei wird nach Geschlecht und Alter differenziert (Männer haben im Schnitt eine höhere HRV). Die Werte können für therapeutische Zwecke erhoben werden und werden am besten im Verlauf einer Intervention mehrmals gemessen.

Herzrate:

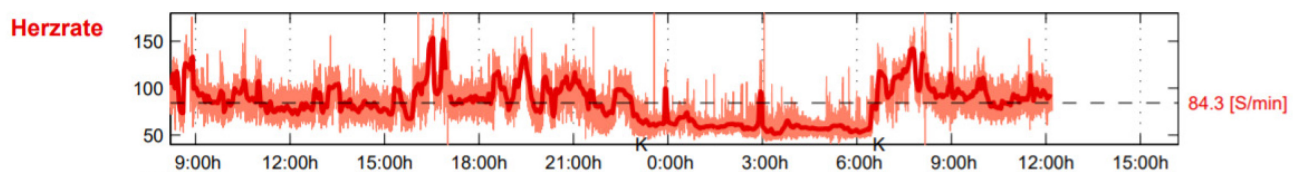


Abbildung 17 Die Herzfrequenz ist über den Verlauf einer 28h Messung aufgezeichnet. Die Probandin hat mit dem Messgerät beim Schlafengehen und Aufstehen eine Markierung gesetzt. Hier zu sehen in Form eines kleinen K auf der Zeitachse. Die Durchschnittliche Herzfrequenz ist mit einer Strichlinie abgebildet und der Wert am rechten Rand angeführt.

Die Ruhe-Herzfrequenz ist bei hohem Sympathikotonus, z. B. bei Dauerstress, erhöht und bei hohem Parasympathikotonus, z. B. durch körperliches Training, niedrig. Im Schnitt haben Frauen eine höhere Ruhe-Herzfrequenz als Männer. Zur Abschätzung hoher Herzfrequenz als Risikofaktor gibt es viele Studien mit unterschiedlichen Ergebnissen. Im „Henry Ford Exercise Testing Project“ wurden 56 634 Männer und Frauen im Alter von etwa 50 Jahren prospektiv hinsichtlich der Mortalität in Abhängigkeit von der Herzfrequenz untersucht. Dabei wurden etliche Störgrößen und insbesondere die körperliche Konstitution der Proband*innen mittels „Exercise stress tests“ berücksichtigt. Es zeigte sich bei hoher Herzrate generell eine erhöhte Mortalität. Auch konnte gezeigt werden, dass ohne den Einfluss der körperlichen Konstitution bei erhöhter Herzrate Männer einer signifikant erhöhten Mortalität unterliegen, während dieser Zusammenhang bei Frauen nicht signifikant war (α -Fehler 1%) (196). Geschlechtsspezifische physiologische Unterschiede sind daher wahrscheinlich und es scheint nicht so, als würde jedem Menschen eine ähnliche Anzahl an Herzschlägen im Leben zur Verfügung stehen. Das durchschnittliche „Follow-up“ in der Studie lag bei 11 Jahren und Frauen haben generell eine höhere Lebenserwartung als Männer, wurden aber im gleichen Alter für die Studie ausgewählt, was ein Kritikpunkt ist.

Wichtig ist auch bei der Herzfrequenz die chronobiologische Betrachtung. Zum Beispiel ist es relevant, wie schnell sie zu Beginn des Schlafes absinkt und wie weit. Es ist auch darauf zu achten, ob Tiefschlaf und REM- Schlaf am Verlauf der Herzfrequenz ablesbar sind. Das Herz steht nur bei einer Frequenz von unter 110 Schlägen pro Minute unter dem Einfluss des Parasympathikus. Dies entspricht nämlich der Eigenfrequenz des Herzens, welche in Ruhe durch die parasympathische Aktivität „gebremst“ wird.

SDNN:

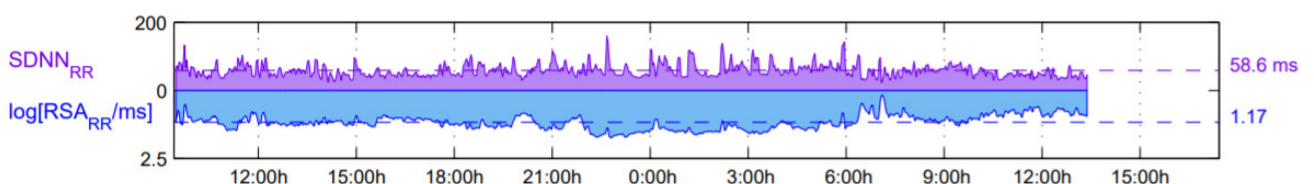


Abbildung 18: SDNN

Ist der Parameter, welcher die HRV im eigentlichen Sinne angibt. SDNN steht für „Standard deviation of all NN- intervals“, wobei „normal-to-normal (NN)-intervals“ den Abstand

zwischen zwei R-Zacken im gemessenen EKG beschreiben. Die Varianz (σ^2) ist ein statistischer Wert für den Grad der Abweichung der erhobenen Werte vom Mittelwert (in diesem Fall mittlere Herzrate). Sie ergibt sich aus der Summe der Quadrate der Differenzen aller Werte zum Mittelwert, gemittelt über n , und hat selbst eine quadratische Dimension. Um einen anschaulicheren Wert zu erhalten kann man die Quadratwurzel aus der Varianz ziehen und erhält die Standardabweichung (σ): ein Maß für die Homogenität bzw. Heterogenität der Stichprobe (197). Je größer die Stichprobe ist, desto höher ist die Standardabweichung, weshalb die SDNN auch von der Länge der Messung abhängig ist und nicht so gut als Vergleichsparameter zwischen Individuen dient. Es gibt noch einige andere statistische und geometrische Darstellungsmöglichkeiten der HRV, wie zum Beispiel die Abweichung von 5min Intervallen einer längeren Messung (SDANN), oder die Anzahl über einen gewissen Schwellenwert abweichender Herzschläge (NN50 count) (198).

Die SDNN ist ein Richtwert für den Gesundheitszustand des Individuums. Eine hohe HRV bedeutet eine gute vegetative Anpassungsfähigkeit und geht mit erhöhter Vigilanz und geringerem Unfallrisiko einher. Sie korreliert auch mit der autonomen Vitalität (Summen aus HF und LF Band), welcher ein Parameter für das biologische Alter ist.

Ein hohe SDNN kann allerdings auf verschiedenen Wegen Zustandekommen und auf unterschiedlichsten „Frequenzkonstellationen“ beruhen. Starke Parasympathikus-Aktivität (im Schlaf) führt zu einem stärkeren „Schwingen“ der Herzfrequenz, wie auch mäßige Aktivität aller 3 Bänder der Spektralanalyse. Für weitere Aussagen und als prognostischer Parameter ist die SDNN also limitiert. Hierfür ist es besser spektrale Komponenten, oder den logRSA heranzuziehen (199).

Spektrale Komponenten:

Mit Hilfe der Fourier Transformation gewinnt man, wie schon erwähnt, die spektralen Komponenten, welche in der HRV stecken. Die Schwingungen, welche sich überlagern, so zu sagen. Damit wird eine differenziertere Analyse als mit der SDNN möglich. Folgende Bereiche werden im CCG abgebildet:

Frequenzbereich	Bezeichnung	Bedeutung
0,15-0,4 Hz	High frequency (HF)-Band	Parasympathikus-Aktivität errechenbar
0,04-0,15 Hz	Low frequency (LF)-Band	Parasympathische und sympathische Aktivität
0,003-0,04 Hz	Very low frequency (VLF)-Band	Rhythmus peripherer Durchblutung u.a.
0,0001-0,003 Hz	Ultra low frequency (ULF)-Band	Keine Bedeutung in der Analyse

Tabelle 5: Erklärung Frequenzbereiche

Die Guidelines zur Setzung der genauen Frequenzbereiche wurde 1996 von einer Arbeitsgruppe der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie und der Nordamerikanischen Gemeinschaft für Schrittmacher- und Elektrophysiologie festgelegt (198).

Sympathikus- und Parasympathikus- Aktivität:

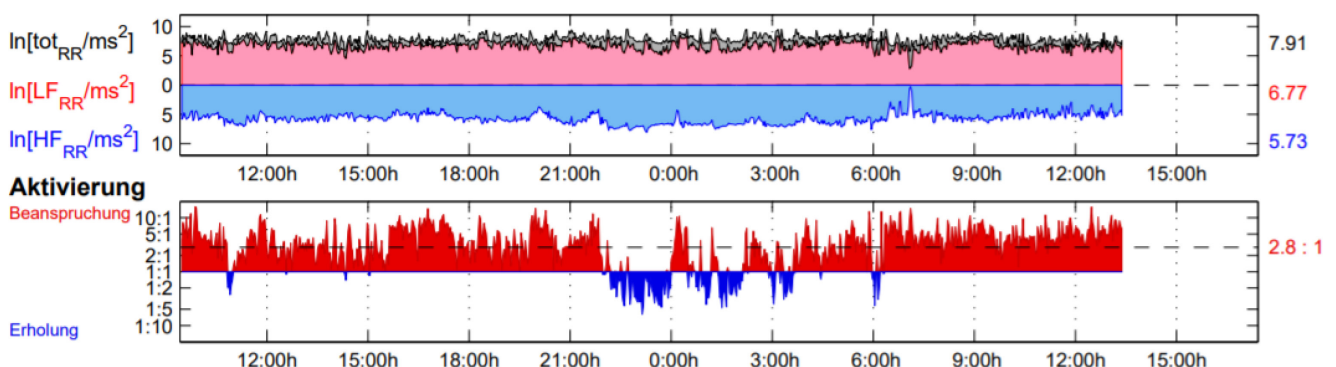


Abbildung 19: Beanspruchung und Erholung

Mit dem \ln (natürlicher Logarithmus) von HF und LF erhält man indirekt parasympathische und sympathische Aktivität. Genauer gesagt: deren modulierende Aktivität auf die Herzrate, welche die Aktivität beider Systeme widerspiegelt. Es wird allerdings nicht der direkte Tonus erhoben, welcher ein elektrophysiologischer Parameter wäre (200).

Die sympathische Aktivität ist bei Beanspruchung und Stress erhöht und die parasympathische Aktivität bei Erholung, Schlaf und nach dem Essen. Beide Systeme sollen ausgewogen sein damit sich Energiegewinn und Verbrauch die Waage halten, wie in *Abbildung 19*. Bei entsprechender Erholung im Schlaf, kann mehr Beanspruchung am Tag stattfinden.

Umgekehrt kann die Parasympathische Aktivität bei fehlender Erholung und Müdigkeit untertags erhöht sein. Die sympathische Aktivität kann bei fehlender Verarbeitung stressvoller Ereignisse auch im Schlaf erhöht bleiben (darum Befindens-Fragebögen vor dem Schlaf). Die beiden Systeme können aufgrund chronischen Stresses, bei dissoziiertem Zustand nach einem Trauma, oder aufgrund von Medikamenten aus dem Gleichgewicht geraten. Für ein genaueres Verständnis der Systeme sei auf die Kapitel: „Vegetatives Nervensystem“ und „Stress und Vegetatives Nervensystem“, in der Einführung dieser Arbeit, verwiesen.

Die Aktivität des Parasympathikus kann nicht nur, wie es sehr etabliert ist, über den lnHF erhalten werden, sondern auch über den logRSA (dekadischer Logarithmus der respiratorischen Sinusarrhythmie). Die erhaltenen Werte sind sehr ähnlich, da ja auch das HF Band den Einfluss der RSA auf die Herzrate angibt, allerdings korrelieren die mit log RSA erhaltenen Wert ein wenig besser, aufgrund einer optimierten Berechnungsmethode (201, 202). Aus diesem Grund werden in unserer Untersuchung beide Werte erhoben. Es werden ähnliche Ergebnisse erwartet.

Das Gleichgewicht zwischen Sympathikus- und Parasympathikus-Aktivität kann am besten mit dem Vegetativen Quotienten (VQ) bei Tag und bei Nacht beurteilt werden. Er stellt das Verhältnis zwischen LF und HF dar (LF/HF). Ein Überwiegen des LF Bandes ist normal und bedeutet noch keine Überlastung. Wenn der alters- und geschlechtsspezifische Normbereich überschritten ist, sollte Entlastung angestrebt werden. Die Bedeutung des VQ soll hier noch etwas genauer erläutert werden:

Wie schon im Kapitel „Blutdruckrhythmus“ erklärt, werden die Mayer-Wellen, die dem LF-Band in der Spektralanalyse zugrunde liegen, nicht nur von der Sympathikus-Aktivität beeinflusst (allerdings überwiegend), sondern sind auch atemabhängig.

Bei pharmakologischer Suppression, sowohl des Sympathikus mit Propranolol (β 1- und β 2-Blockade), als auch des Parasympathikus mit Atropin (Muskarin-Rezeptor-Blockade) in jungen Männern (n=12), kam es zu einer Verringerung der Intensität des LF-Bandes. Die maximale Suppression des LF-Bandes konnte mit Verabreichung beider Substanzen zusammen bewirkt werden (195). Zu welchen genauen Anteilen sich schließlich jedes der beiden Systeme im LF-Band widerspiegelt, ist schwer zu sagen.

Wir haben es bei dem lnLF also nicht mit einem reinen Sympathikus repräsentierenden Parameter zu tun, was immer wieder kritisiert wird. Aus diesem Grund ist die Bedeutung des oben beschriebenen VQ hervorstreichen. Denn setzt man das LF-Band in Relation zum HF-Band und bildet den VQ, so relativiert sich das „Mitschwingen“ des Parasympathikus im lnLF und im Vergleich mit alters- und geschlechtsspezifischen Normwerten kann abgeschätzt werden, ob Sympathikus-, oder Parasympathikus-Aktivität überwiegen und in welchem Ausmaß.

Dieser Parameter hat in der Erforschung des VNS einen hohen Wert, da es an Alternativen zur Messung der Sympathikus-Aktivität mangelt. Die Messung des Hautwiderstandes, welche ein Standard ist, kann kaum über den gesamten Tagesgang erfolgen, wodurch eine chronobiologische Betrachtung nicht möglich wäre, und hat auch noch andere Limitationen.

Puls-Atem-Quotient:

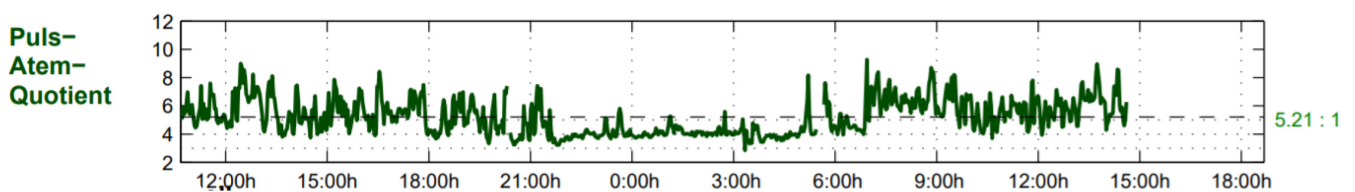


Abbildung 20: Puls-Atem-Quotient

Der PAQ gibt an, wie gut Herz und Lunge vegetativ gekoppelt sind. Im Wachzustand und bei Aktivität schwankt der PAQ aufgrund der wechselnden Herzrate und Atemfrequenz sehr stark. Im Schlaf wird dieser mehr oder weniger konstant. Ein ganzzahliger PRQ, meist um das Verhältnis 1:4, deutet auf einen Zustand maximaler Entspannung hin. So wie es auch in *Abbildung 20* während des Schlafes, von 21:30-5:00 Uhr, zu sehen ist. Durch die ideale Koppelung der beiden Systeme verringert sich der Energieverbrauch auf ein Minimum, wie es einem trophotropen Zustand entspricht. Bei sportlichen Personen tritt aufgrund der geringen Herzrate oft ein PRQ von 1:3 auf (203).

Wie funktioniert allerdings diese Kopplung zwischen Herz und Lunge?

Auf den Einfluss der Atemaktivität auf die Herzrate, wurde beim Kapitel „Respiratorische Sinusarrhythmie“ bereits eingegangen. Auch zur Beeinflussung der Atmung von Seite des Herzens gibt es eine Theorie: Bei gleichzeitiger Aufzeichnung von EKG und Atemzügen, ergibt sich eine Anhäufung der Atemzüge (Beginn) zu 3 Zeitpunkten des Herzzyklus. Das könnte

dadurch erklärt werden, dass diese 3 Anhäufungen möglicherweise durch 3 reflexartige Verknüpfungen von Herz und Lungen verursacht werden. Während der Systole über Spannungsrezeptoren im Myokard, während der Diastole über Volumen-Rezeptoren in den Vorhöfen, oder Myokardrezeptoren, welche auf die Entspannung reagieren und durch die Pulswelle vermittelt über Barorezeptoren im Aortenbogen bzw. dem Karotissinus (203, 204).

Beispiele:

Zum Besseren Verständnis der Messungen werden hier einige Beispiele zum Thema Stress und Schlaf erläutert.

1) Stress:

Abbildung 21 zeigt die Aufzeichnung des QPA einer jungen Frau mit sehr aktivem Tagesgang und guter Erholung im Schlaf. Es besteht ein Gleichgewicht zwischen Energieverbrauch und Bereitstellung.

Abbildung 22 ist das CCG einer jungen Frau, die unter chronischer Stressüberlastung steht, zu sehen. Sie befindet sich in einem Zustand erhöhten Burn-out-Risikos, denn die verbrauchte Energie kann aufgrund ineffektiver Erholung nicht mehr bereitgestellt werden. Der Körper fährt ein Notprogramm im Sinne der „Widerstandsphase“ nach Seyle (siehe Kapitel „Stress“).

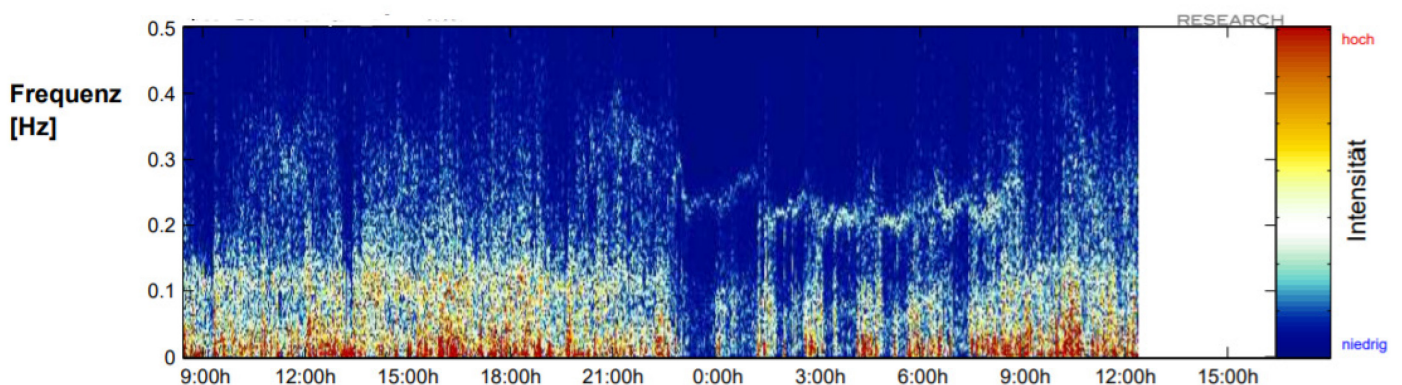


Abbildung 21: CCG einer jungen Frau mit viel Aktivität am Tag und guter Erholung in der Nacht - keine Stressüberlastung.
Der VQ liegt bei 2,6:1

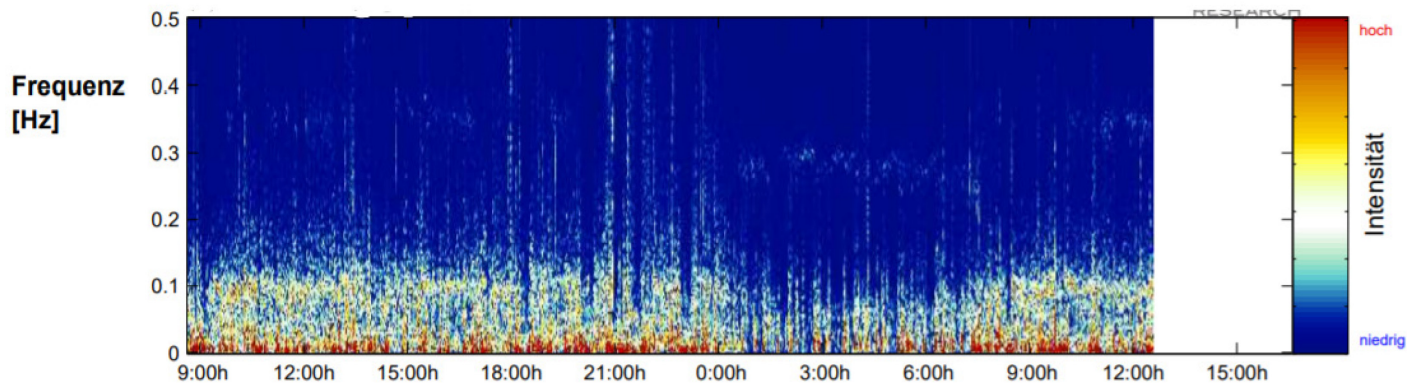


Abbildung 22: CCG einer jungen Frau unter dauerhafter Stressüberlastung. Es besteht erhöhtes Burn-out Risiko. Die Erholung in der Nacht ist ineffektiv. der VQ liegt bei 6,5:1

2) Schlaf:

In *Abbildung 23* sind 3 verschiedene Schlafmessungen von jungen Frauen zu sehen.

Im Beispiel A ist eine ideale Schlafarchitektur zu sehen. Dabei sind Tiefschlafphase und REM-Phase gut identifizierbar. Die Tiefschlafphase, welche sehr bald nach dem Einschlafen erreicht wird, ist durch die HF-Bande und der darunterliegenden blauen Fläche zu erkennen. Bei der REM-Phase sind LF und VLF-Bande überwiegend. Vor allem der Kernschlaf stellt sich sehr sauber dar. Der Verlauf der Schlaftiefe wird durch das Aktivitäts-Erholungs-Diagramm nachvollziehbar. Dieses hilft auch bei der Einschätzung der Dauer der BRAC-Zyklen.

Im Beispiel B ist die HF-Bande gut ausgeprägt, LF und VLF sind allerdings nicht ganz unterbrochen und auch in den Tiefschlafphasen vorhanden. Dieser Proband könnte seinen Schlaf mit Interventionen noch optimieren (siehe Kapitel „Beratungsgespräche“). Das Bild C zeigt den Schlaf einer Burn-out-gefährdeten Frau, welche in der Nacht zu keiner effektiven Erholung kommt. In diesem Fall ist die Schlafarchitektur kaum noch vorhanden und kann nur noch anhand der zarten Linie im HF-Bereich erahnt werden. Eine Therapeutische Maßnahme ist dringend erforderlich.

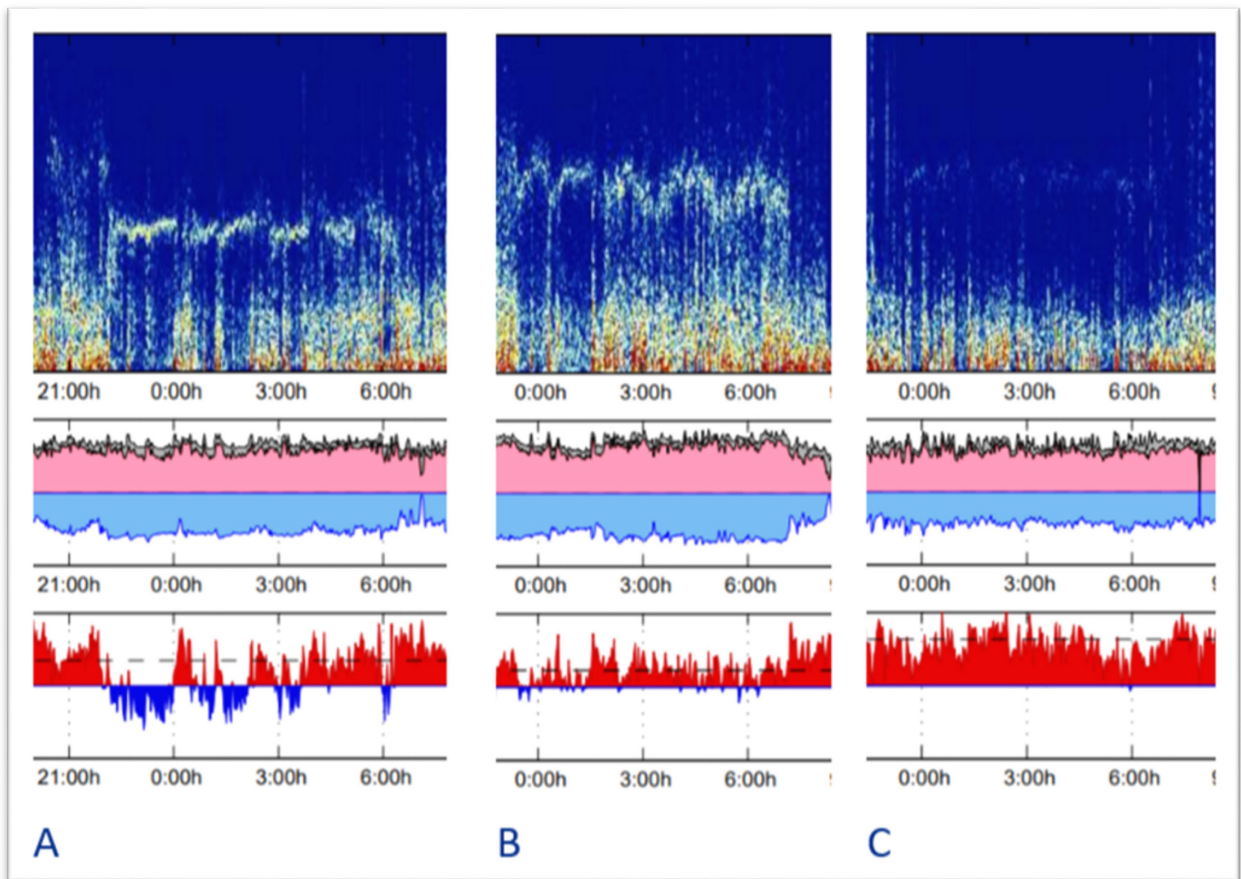


Abbildung 23: Veranschaulichung von Schlaf im CCG anhand einiger Beispiele
A ideale Schlafarchitektur **B** erhaltene Schlafarchitektur **C** kaum noch erkennbare Schlafarchitektur

Möglichkeiten und Grenzen der HRV Messungen

Limitationen der Herzratenvariabilitätsmessungen:

Physiologischer Weise wird die Herzfrequenz durch Vagus und Sympathikus Fasern reguliert. In Situationen, bei denen es zu einer Entkoppelung des Herzschlages vom VNS kommt, können mittels HRV Analyse keine korrekten Rückschlüsse auf die VNS Aktivität getroffen werden. Dazu können Elektrolytstörungen oder eine fehlerhafte Reizleitung führen. Auch Erkrankungen, welche Einfluss auf die Atemfrequenz haben, können zu Analysefehlern führen. Des Weiteren können Fehler auf technischer Seite zu nicht auswertbaren, oder falschen Ergebnissen führen. Die Abtastrate der Geräte muss ausreichend hoch sein, um jede R-Zacke zu erfassen und ein adäquater Elektrodenkontakt über die Messperiode müssen gegeben sein. Bei der Auswertung der Messungen wird auf folgende Auffälligkeiten oder Pathologien geachtet:

- Häufige Extrasystolen
- Bigeminus
- Arrhythmien
- Tachykardien
- OSAS

Klinische Bedeutung von HRV-Messungen:

In vielen Bereichen der Medizin wird die HRV in der Forschung eingesetzt. Auch klinische Anwendungen wurden schon früh implementiert. Zum Beispiel als prognostisches Instrument bei koronararteriellen Krankheiten (205), oder für diabetische autonome Neuropathie (206). Einsatz findet die HRV Messung weiters vor allem in der psychiatrischen und rehabilitativen Medizin, aber auch in vielen anderen Bereichen. Viele Publikationen gibt es aktuell zum Thema HRV-Biofeedback-Therapie.

Statistik

Der α -Fehler wurde, wie es weitgehend etabliert ist, mit 5%, bzw. $p=0,05$ festgelegt.

Die Nullhypothese (H_0) lautet: Es gibt keinen Unterschied zwischen Verum und Placebo Gruppe zu den 3 Messzeitpunkten;

Die Forschungs-Hypothese (H_1) lautet: Die Verabreichung des Verum hat im Vergleich zum Placebo einen signifikanten Effekt auf das Vegetative Nervensystem zu Messzeitpunkt 2, oder 3.

Bei einer Teilnehmerinnenzahl von 40 und einer Dropoutrate von 3, beträgt zu Messzeit 1 und 2 betrachtete Stichprobengröße 37 (MZP1 und 2: $n=40-3=37$). Zum Messzeitpunkt 3 entfielen weitere 2 Probandinnen, womit hier die betrachtete Stichprobengröße bei 35 liegt (MZP3: $n=35$)

Für die statistische Auswertung der Daten wurde SPSS 26 herangezogen.

Die Varianzanalyse ist ein fortgeschrittenes statistisches Verfahren. Sie dient der Analyse von mehr als 2 Vergleichsgruppen, Einflussgrößen (bzw. dessen Ausprägung) oder in diesem Fall mehreren Messwiederholungen. Es gibt univariate und multivariate Modelle, also welche, die zur Berechnung eines, oder mehrerer Parameter herangezogen werden können. Bei der Varianzanalyse wird die Varianz auf unterschiedliche Arten berechnet, zum einen die Interventions- unabhängige Varianz innerhalb der unterschiedlichen Gruppen, und zum anderen die Interventions- abhängige Varianz zwischen den Gruppen. Mittels F-Test wird schließlich errechnet, ob sich die unterschiedlich berechneten Varianzen unterscheiden. Überwiegt die Varianz, welche durch eine Intervention oder ein Unterscheidungsmerkmal entsteht, gegenüber der Fehlervarianz, also der natürlichen Abweichung in einer Gruppe, so erhält man ein signifikantes Ergebnis. Bei den angewandten Tests (Testwahl je nach erfüllten Vorbedingungen) wird die Nullhypothese verworfen, wenn der p-Wert unter dem α -Fehler liegt. Dies geht entsprechend mit einem hohen F-Wert einher (207).

Um herauszufinden, welche Gruppe gegebenenfalls den signifikanten Unterschied aufweist, ist ein post-hoc Test notwendig. Dazu gibt es zahlreiche Verfahren mit unterschiedlichen Vorbedingungen. Zu den einfacheren post-hoc Tests zählen LSD (least significant difference) und Bonferroni.

In dieser Arbeit wurde ein multivariates Modell zur Anwendung benötigt, da mehrere Parameter analysiert wurden und es bei multiplem Testen zu einer α -Akkumulation gekommen wäre. Methoden hierfür sind die MANOVA (multivariates allgemeines lineares Modell), oder das GLM (generalized linear model), welches zusätzlich noch die multiple lineare Regression beinhaltet. Wie zu Beginn festgelegt, wurde eine GLM durchgeführt. Als post-hoc-Test wurde eine LSD gewählt. Weiter im Detail war das statistische Vorgehen nicht von Anfang an festgelegt worden, um sich in dieser frühen Phase der Forschung nicht zu sehr einzuschränken, es werden allerdings im Weiteren sämtliche durchgeführten Analyseschritte und Ergebnisse transparent aufgelistet. Angesichts des explorativen Vorgehens wurde in vollem Bewusstsein der limitierten Aussagen und eher geringen Trennschärfe der Ergebnisse gearbeitet. Grundsätzlich wurde vom globalen Test beginnend zum Detail hingearbeitet.

In der GLM wurde als Zwischensubjektfaktor die Gruppe (Verum, Placebo) und als Innersubjektfaktor der Messzeitpunkt angegeben (MZP1,2,3,). Bei der Durchführung in SPSS wurden Tests auf Vorbedingungen (Levene, Mauchli, Shapiro-Wilk-Test) und Post-hoc-Test (LSD) mitgemacht. Wichtige Vorbedingungen für die GLM sind Stetigkeit, Homogenität der Varianzen und Normalverteilung. Unter Umständen müssen noch andere Vorbedingungen beachtet werden. Kann eine Vorbedingung nicht erfüllt werden, so muss auf den p-Wert einer entsprechend abweichenden Berechnungsmethode zugegriffen werden, welcher dann oft etwas höher liegt. Bei unserer GLM wurden 9 Parameter untersucht, 8 davon erfüllten alle Vorbedingungen. Nur bei den SDNN Wach-Werten musste der mittels Greenhouse-Geissler-Test errechnete p-Wert herangezogen werden.

Erhalten wurden mittels GLM nicht nur der multivariate p-Wert, sondern auch univariate Werte. Am Ende wurden zu einigen Parametern noch Übersichtsgrafiken erstellt. Tabellen und Grafiken liegen im Ergebnisteil dieser Arbeit vor und werden im Diskussionsteil näher erläutert.

Ergebnisse

Deskriptive Statistik: alle Parameter zu allen Messzeitpunkten

Tabelle 6: Deskriptive Statistik

Parameter		MZP1		MZP2		MZP3	
Mittelwert (SD)		Verum	Placebo	Verum	Placebo	Verum	Placebo
HR	24h	78,91 (9,76)	74,02 (8,92)	77,79 (8,49)	72,97 (8,75)	76,52 (7,49)	73,15 (9,14)
	Wach	87,39(10,50)	82,76(10,83)	86,22 (8,66)	80,46(10,51)	84,38 (8,31)	80,93(11,18)
	Schlaf	63,20 (8,76)	56,91 (7,28)	62,07 (7,48)	58,05 (6,53)	61,33 (7,33)	57,44 (6,27)
	Ampl	24,19 (5,73)	25,85 (5,85)	24,15 (4,40)	22,41 (5,81)	23,05 (5,62)	23,49 (6,72)
logRSA	24h	1,31 (0,21)	1,39 (0,19)	1,32 (0,18)	1,41 (0,17)	1,36 (0,16)	1,39 (0,18)
	Wach	1,19 (0,21)	1,26 (0,20)	1,20 (0,17)	1,32 (0,18)	1,24 (0,16)	1,28 (0,20)
	Schlaf	1,53 (0,25)	1,62 (0,21)	1,57 (0,21)	1,62 (0,19)	1,61 (0,21)	1,61 (0,21)
	Ampl	-0,34 (0,15)	-0,37 (0,15)	-0,37 (0,15)	-0,29 (0,13)	-0,37 (0,14)	1,39 (0,19)
InHF	24h	6,06 (0,91)	6,31 (0,80)	6,09 (0,87)	6,40 (0,72)	6,24 (0,88)	6,26 (0,69)
	Wach	5,70 (0,92)	5,90 (0,82)	5,69 (0,82)	6,15 (0,71)	5,84 (0,85)	5,91 (0,71)
	Schlaf	6,71 (1,08)	7,02 (0,93)	6,85 (1,05)	7,03 (0,87)	7,05 (1,11)	6,94 (0,89)
	Ampl	-1,02 (0,75)	-1,18(0,68)	-1,17 (0,70)	-0,88 (0,52)	-1,22(0,61)	-1,03 (0,56)
InLF	24h	6,88 (0,70)	7,03 (0,52)	6,85 (0,62)	7,18 (0,48)	7,03 (0,67)	7,08 (0,46)
	Wach	6,78 (0,67)	6,98 (0,51)	6,73 (0,61)	7,14 (0,48)	6,88 (0,60)	7,00 (0,48)
	Schlaf	7,03 (0,86)	7,20 (0,65)	7,08 (0,76)	7,26 (0,74)	7,35 (0,96)	7,20 (0,62)
	Ampl	-0,25 (0,50)	-0,22 (0,46)	-0,35 (0,58)	-0,11 (0,58)	-0,46 (0,57)	-0,20 (0,51)
InTOT	24h	8,14 (0,63)	8,38 (0,52)	8,13 (0,59)	8,48 (0,50)	8,30 (0,61)	8,41 (0,46)
	Wach	8,02 (0,62)	8,28 (0,54)	7,99 (0,56)	8,45 (0,49)	8,17 (0,59)	8,34 (0,45)
	Schlaf	8,31 (0,75)	8,56 (0,60)	8,38 (0,70)	8,57 (0,67)	8,58 (0,79)	8,53 (0,60)
	Ampl	-0,28 (0,47)	-0,28 (0,44)	-0,39 (0,50)	-0,12 (0,43)	-0,41 (0,43)	-0,19 (0,41)
VQ	24h	0,81 (0,44)	0,72 (0,49)	0,76 (0,43)	0,72 (0,49)	0,79 (0,44)	0,78 (0,42)

	Wach	1,08 (0,46)	1,08 (0,47)	1,04 (0,42)	0,99 (0,43)	1,05 (0,47)	1,09 (0,42)
	Schlaf	0,32 (0,60)	0,18 (0,59)	0,23 (0,56)	0,23 (0,53)	0,30 (0,53)	0,26 (0,57)
	Ampl	0,76 (0,54)	0,89 (0,41)	0,81 (0,44)	0,76 (0,46)	0,75 (0,44)	0,83 (0,40)
SDNN	24h	74,49(23,64)	84,09(22,49)	74,16(21,09)	86,84(24,28)	80,57(25,61)	84,32(20,73)
SQ	24h	48,48(17,58)	53,59(13,73)	52,50(13,42)	49,71(16,11)	47,65(16,43)	49,98(14,19)
QPA	Schlaf	4,20 (1,09)	3,77 (0,67)	4,07 (1,05)	3,79 (0,63)	3,79 (0,98)	3,75 (0,57)

Generalisiertes Lineares Modell (GLM):

Innersubjektfaktoren: Messzeitpunkt, Tageszeit, Parameter

Zwischensubjektfaktoren: Gruppe

Levene Test: (Homogenität der Varianzen)

Die H0 Hypothese des Levene Test kann zu allen Tageszeiten und Messzeitpunkten bei keinem Parameter verworfen werden, womit die Homogenität der Varianzen gegeben ist.

Mauchli Test: (Sphärizität)

Die H0 Hypothese des Mauchli Test kann in keinem Fall verworfen werden, außer bei den SDNN Wach-Werten. Hier wird in der univariaten Analyse auf die Greenhouse-Geißer Berechnung zugegriffen. Bei allen anderen Parametern ist also die Sphärizität erfüllt.

Shapiro-Wilk Test: (Normalverteilung)

Dieser wurde bei allen untersuchten Parametern zum Messzeitpunkt 1 durchgeführt.

Die H0 Hypothese des Shapiro-Wilk Test kann in keinem Fall verworfen werden, außer bei den SDNN Wach-Werten.

Univariate und Multivariate Analyse der unterschiedlichen Tageszeiten:

24hMW	p-Wert	pEta ²	Schlaf	p-Wert	pEta ²
SDNN	0,038	0,100	SDNN	0,147	0,058
InLF	0,037	0,101	InLF	0,085	0,074
InHF	0,730	0,081	InHF	0,198	0,049
InTOT	0,068	0,083	InTOT	0,160	0,055
logRSA	0,240	0,044	logRSA	0,442	0,025
VQ	0,900	0,003	VQ	0,566	0,018
HR	0,720	0,011	HR	0,511	0,021
SQ	0,333	0,035	QPA	0,501	0,021
Multivariat:	0,395	0,116	Multivariat	0,614	0,092
Wach			Amplitude		
SDNN	0,087	0,078	SDNN	0,712	0,011
InLF	0,071	0,079	InLF	0,659	0,013
InHF	0,086	0,074	InHF	0,540	0,019
InTOT	0,098	0,070	InTOT	0,566	0,018
logRSA	0,190	0,050	logRSA	0,327	0,034
VQ	0,775	0,008	VQ	0,430	0,026
HR	0,679	0,012	HR	0,379	0,030
Multivariat	0,614	0,092	Multivariat	0,884	0,051

Tabelle 7: Univariate und Multivariate Analyse

Differenz zur Ganzzahligkeit der QPA -Schlaf- Werte:

	p-Wert	pEta ²
QPA Diff GZ (Schlaf)	0,467	0,023

Tabelle 8: QPA Schlaf- Wach

Übersichtstabelle der Parameter mit univariat niedrigen p-Werten:

p-Werte	24hMW	Wach	Schlaf	Amplitude
SDNN	0,038	0,076	0,147	0,712
InLF	0,037	0,071	0,085	0,659
InHF	0,730	0,086	0,198	0,540
InTOT	0,068	0,098	0,160	0,566

Tabelle 9: niedrige univariate p-Werte

All diese Werte liegen nach Cohen im Bereich einer mittleren Effektstärke (η^2).

Multivariates Ergebnis der interessanten Parameter in 24hMW:

	p-Wert	η^2
Multivariat SDNN, InLF, InHF, InTOT (24hMW)	0,175	0,103

Tabelle 10: Multivariat interessante Parameter

Diagramme

Diagramme 24h MW von SDNN, lnLF, lnHF und lnTOT +Differenzen zu MZP1:

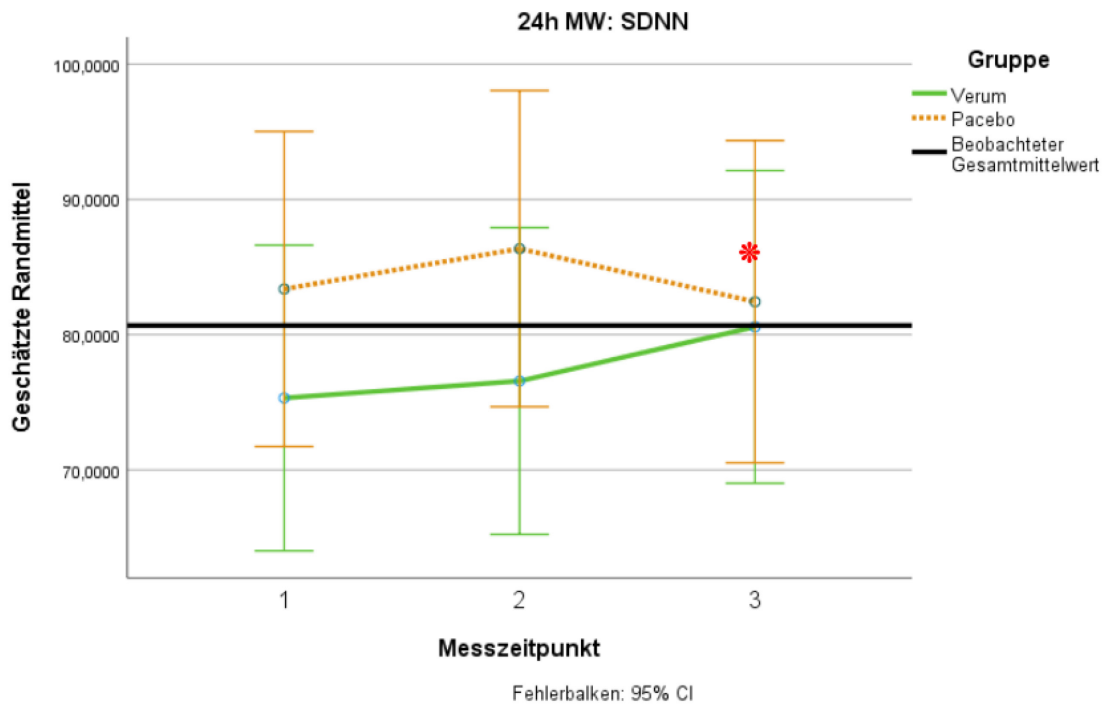


Abbildung 24: SDNN 24hMW; Signifikanz mit *eingezeichnet

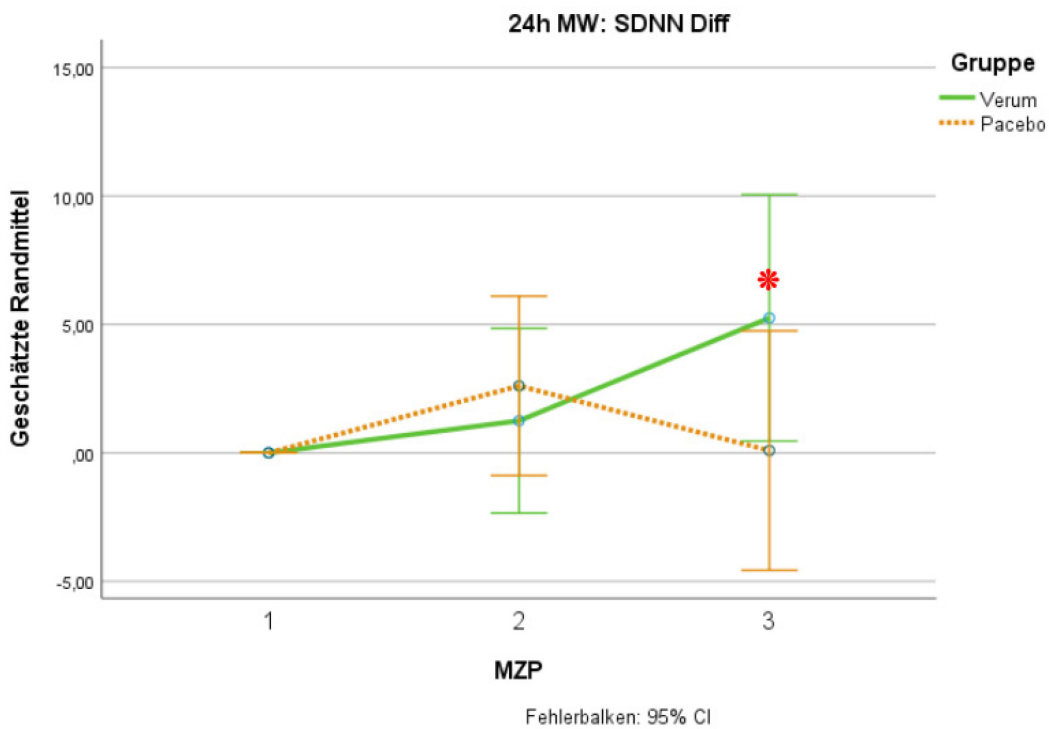


Abbildung 25: SDNN 24hMWDiff; Signifikanz mit *eingezeichnet

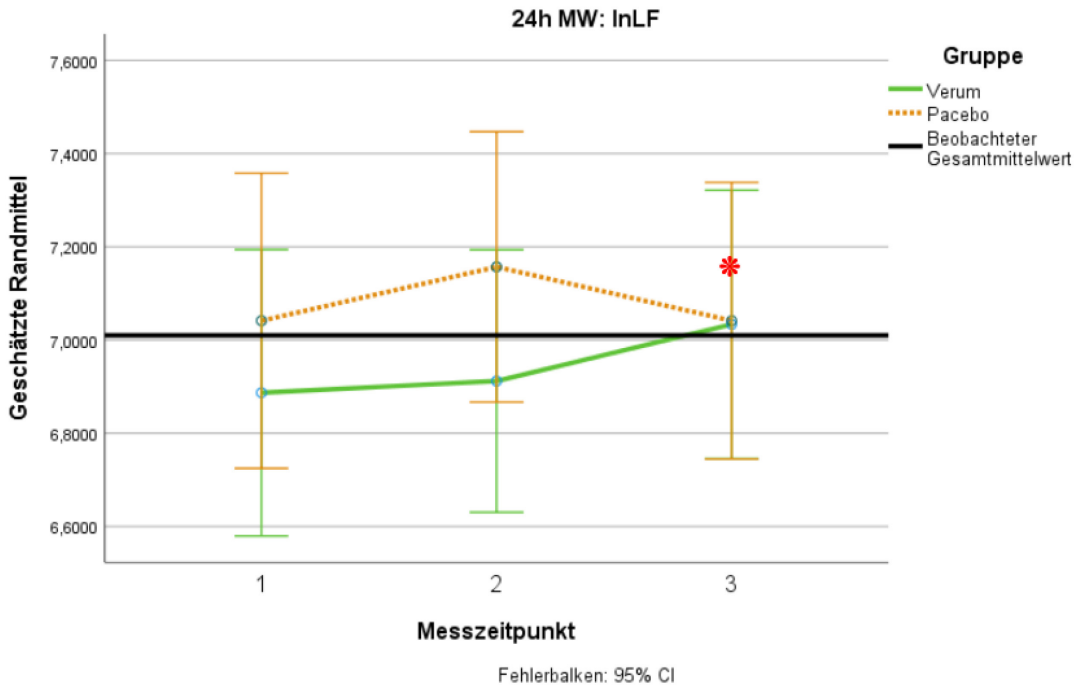


Abbildung 26: InLF 24hMW, Signifikanz mit *eingezeichnet

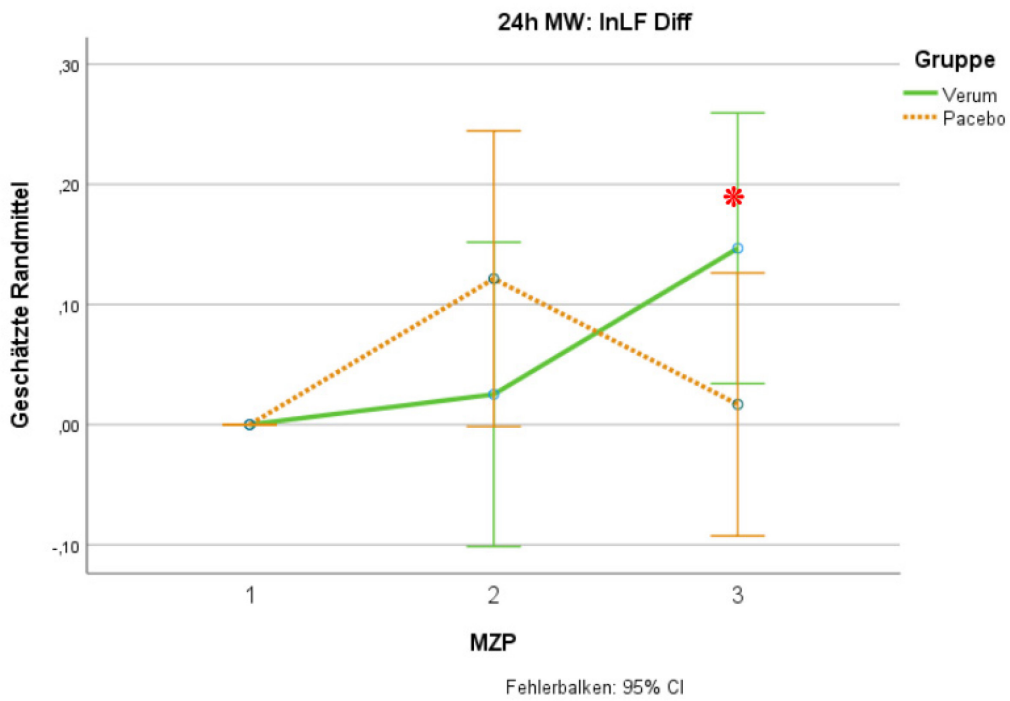


Abbildung 27: InLF 24hMW Diff; Signifikanz mit *eingezeichnet

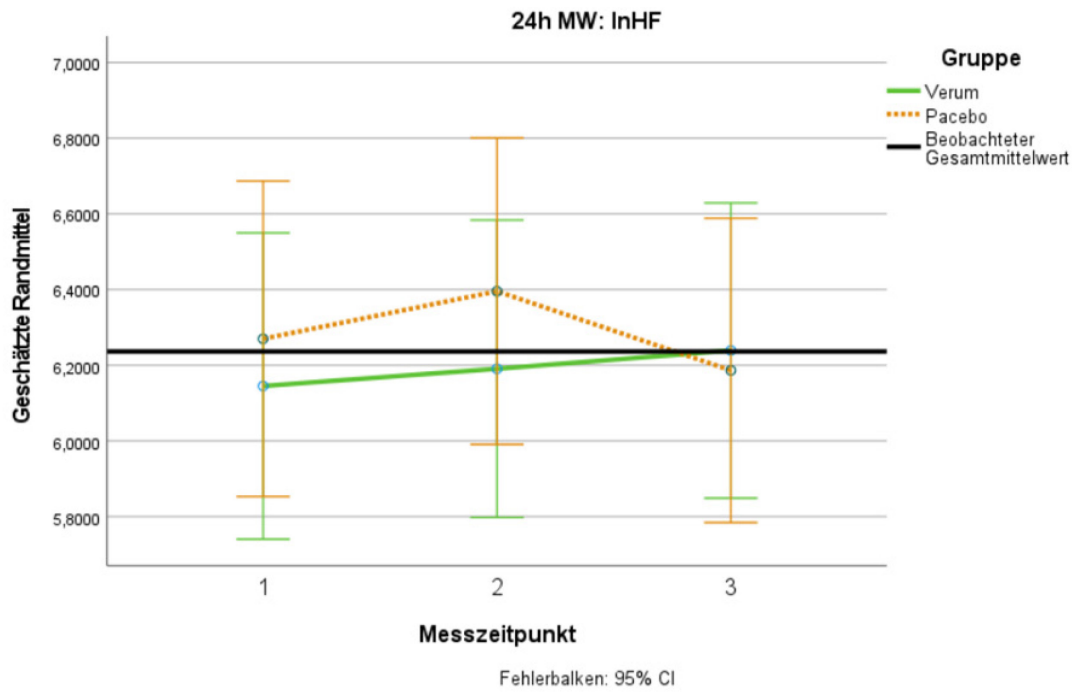


Abbildung 28: InHF 24hMW

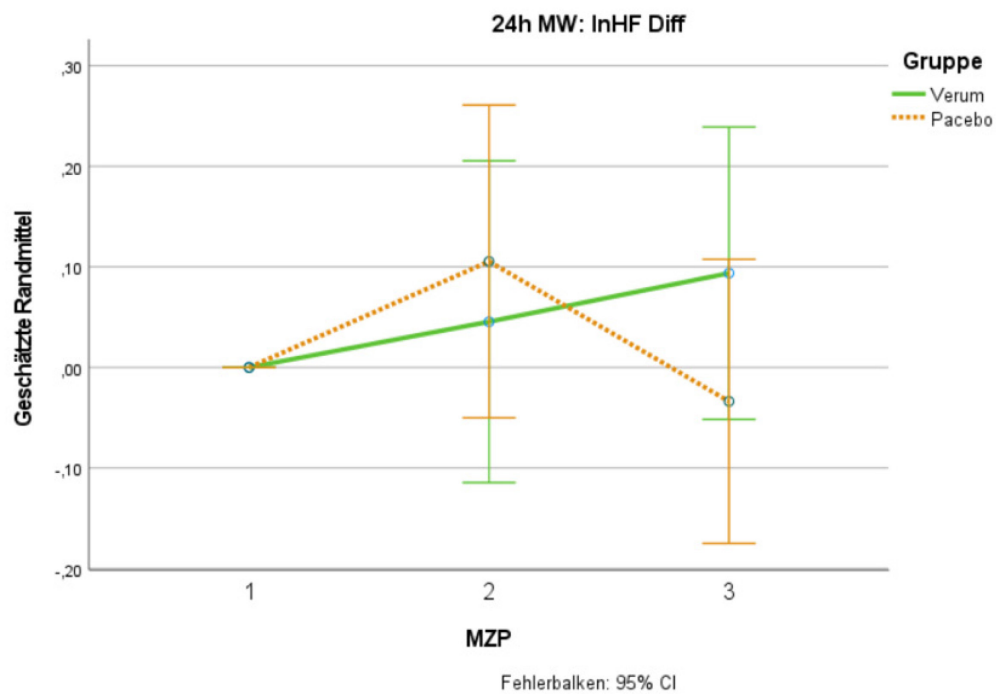


Abbildung 29: InHF 24hMW Diff

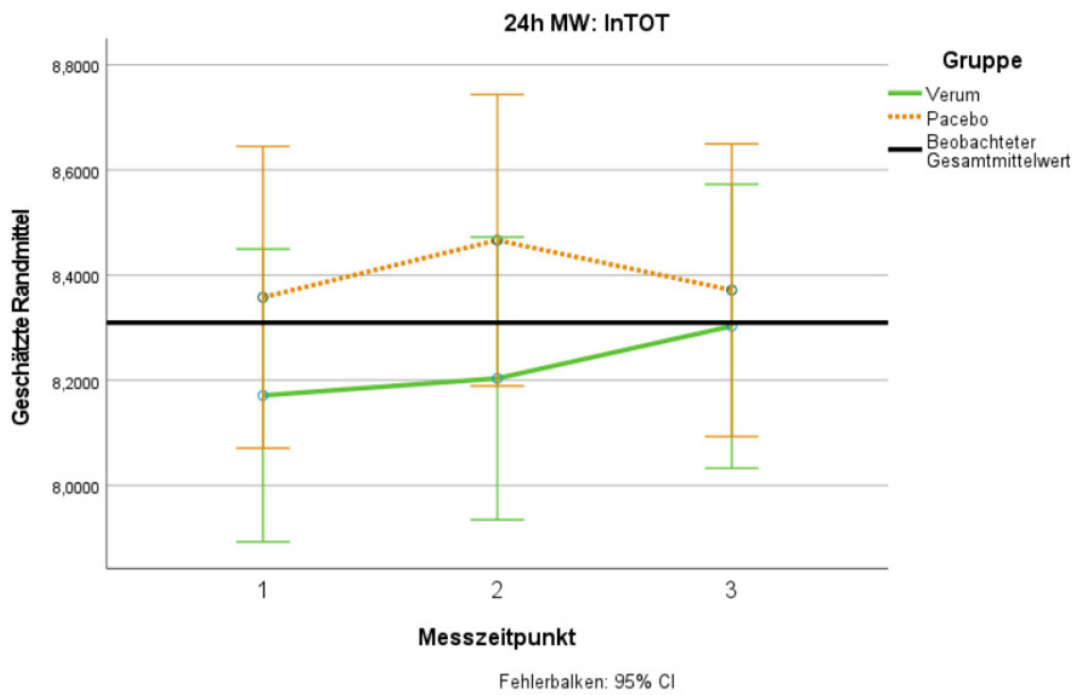


Abbildung 30: InTot 24hMW

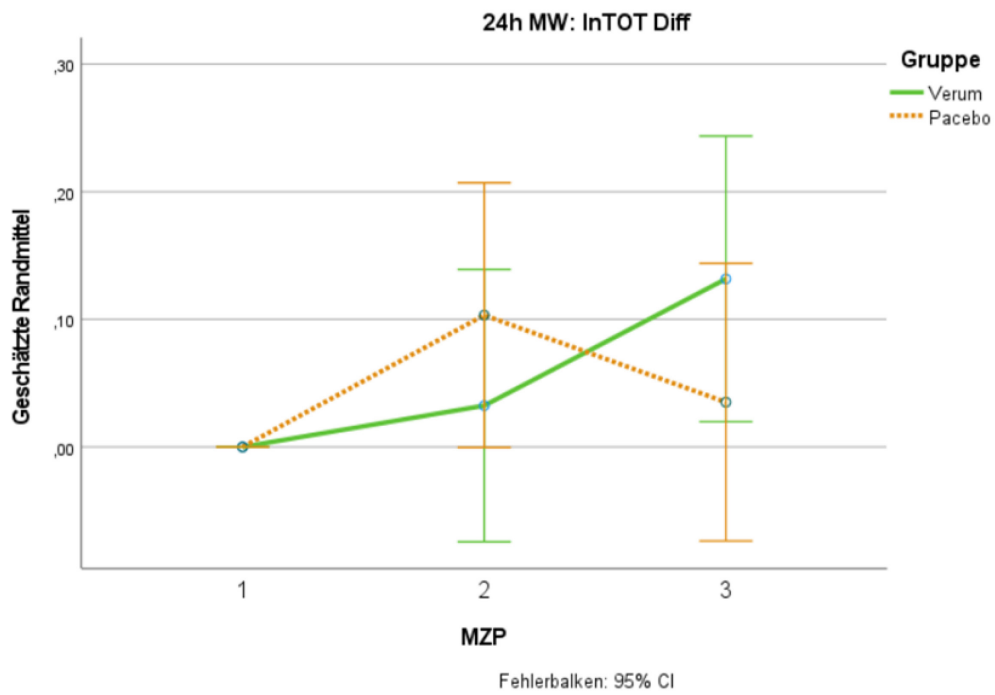


Abbildung 31: InTot 24hMW

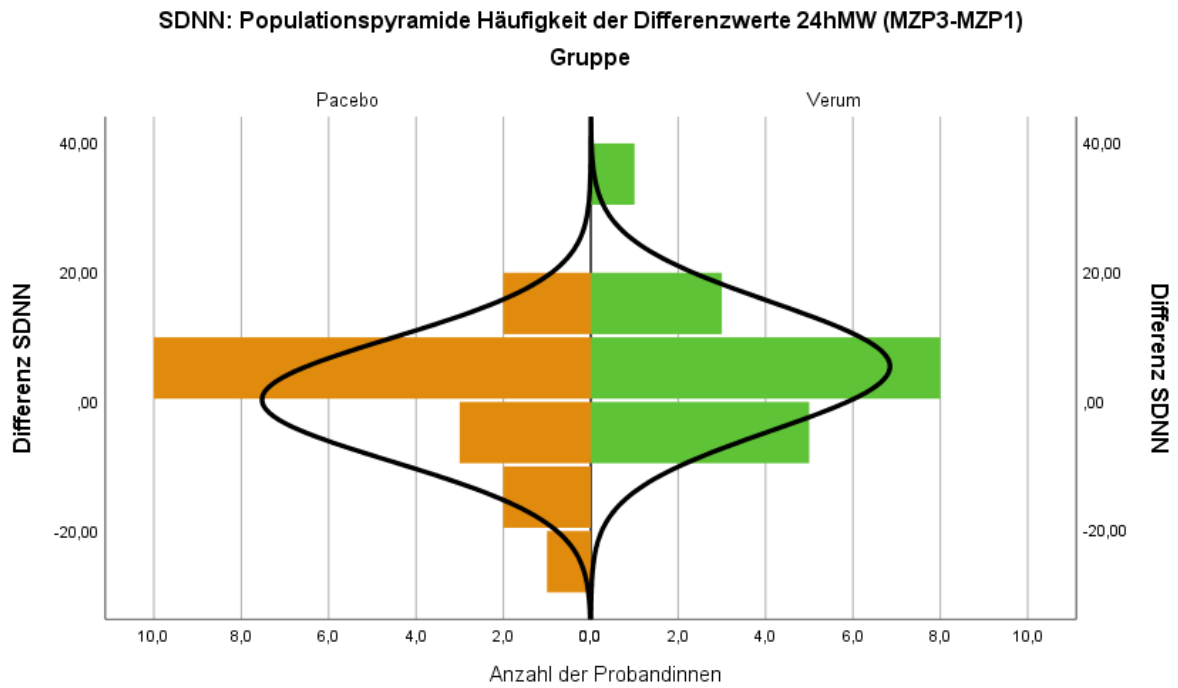


Abbildung 32: SDNN Häufigkeit Diff 24hMW

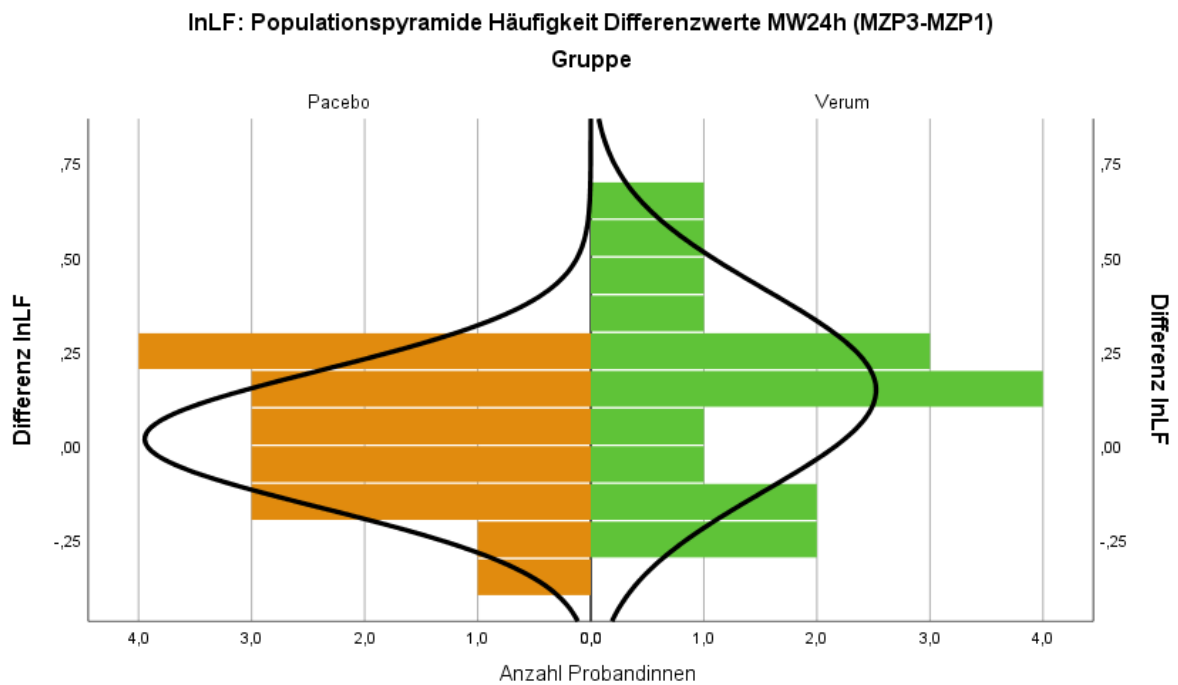


Abbildung 33: InLF Häufigkeit Diff 24hMW

Diagramme Wach von SDNN, lnLF, lnHF und lnTOT +Differenzen zu MZP1:

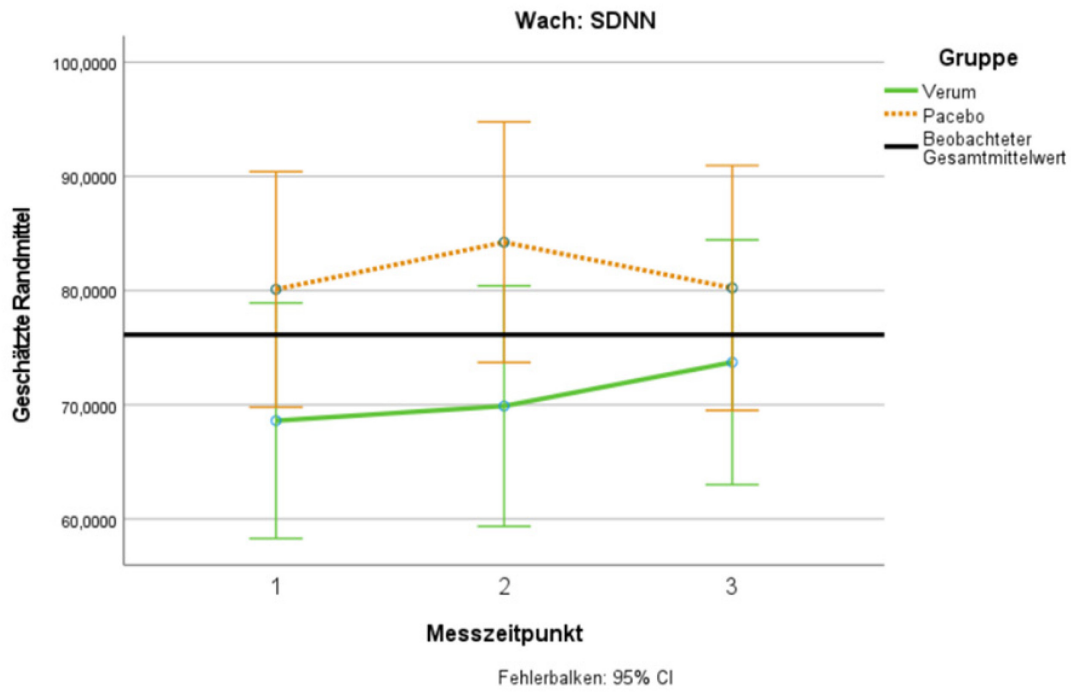


Abbildung 36: Wach SDNN

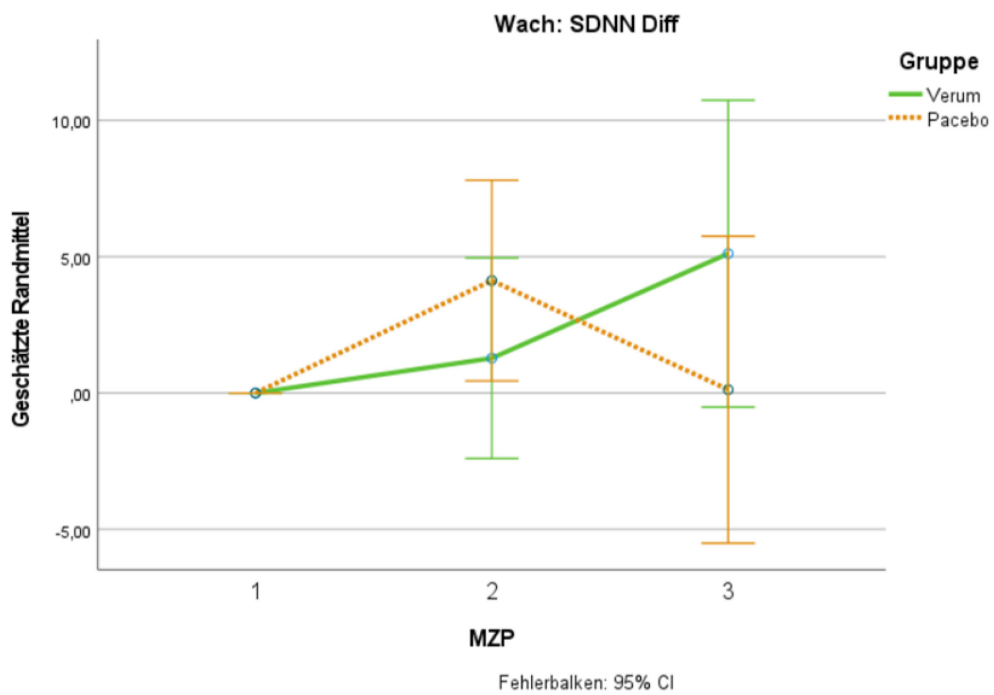


Abbildung 37: Wach SDNN Diff

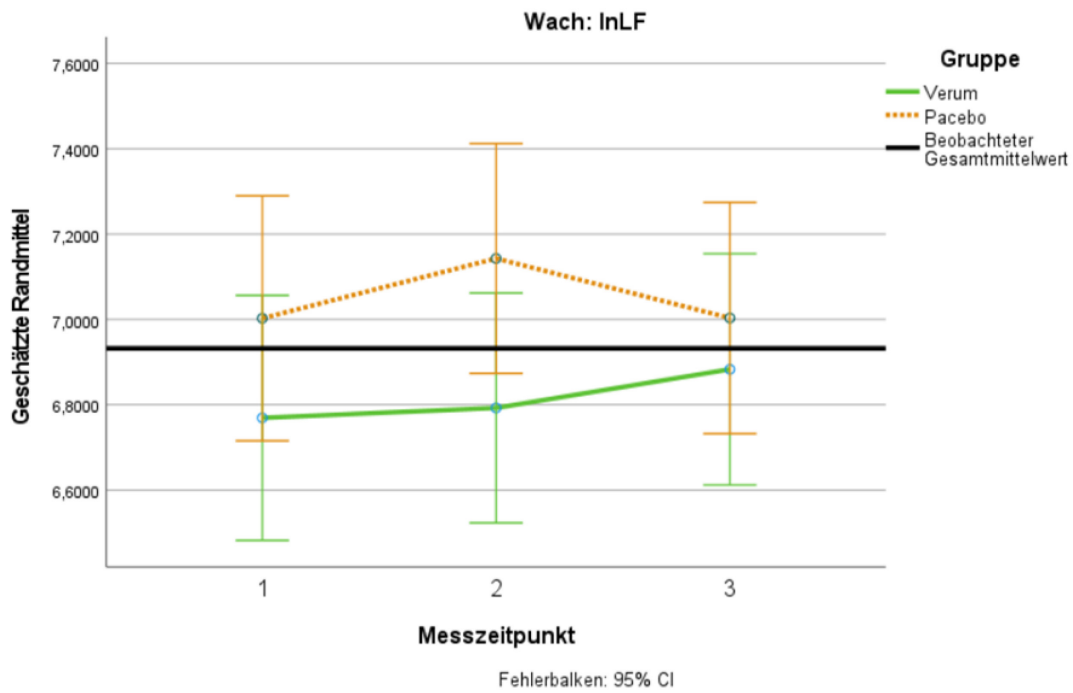


Abbildung 38: Wach InLF

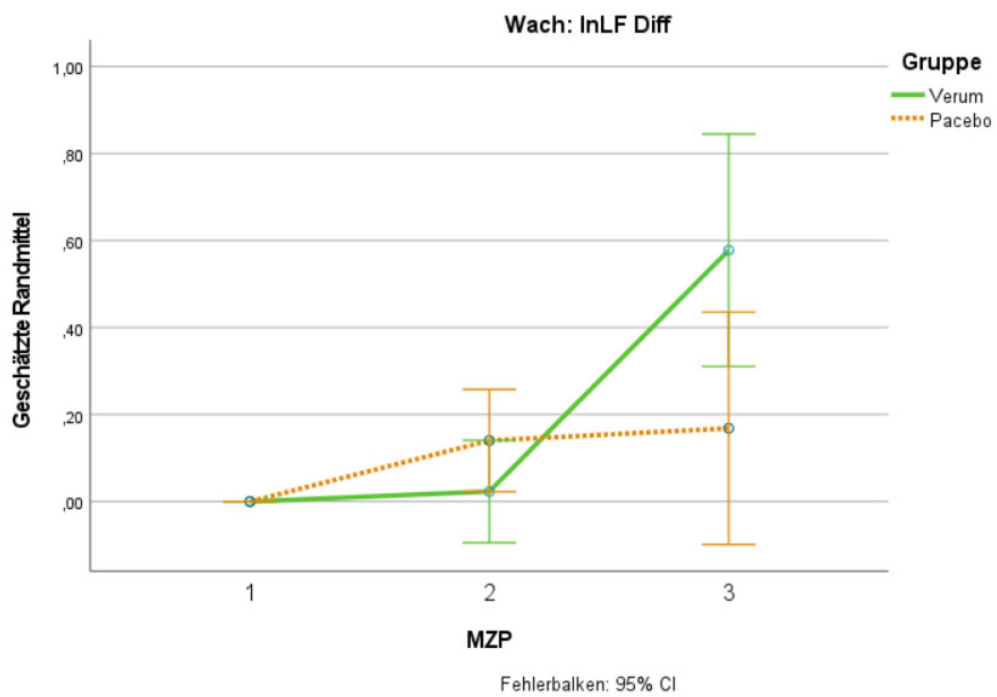


Abbildung 39: Wach InLF Diff

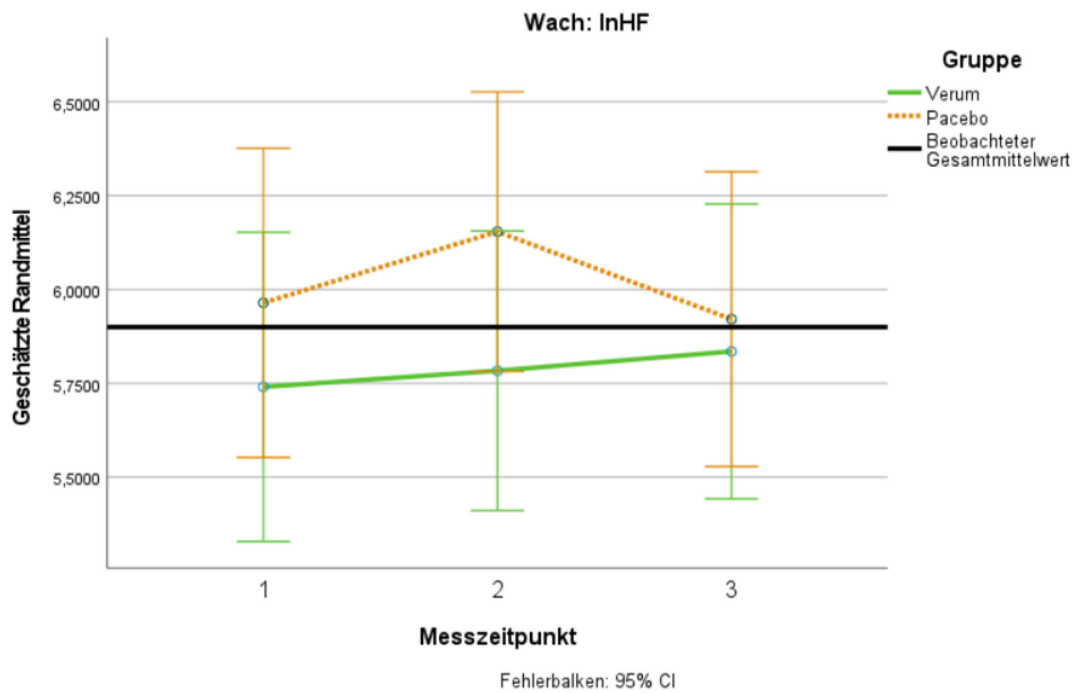


Abbildung 40: Wach InHF

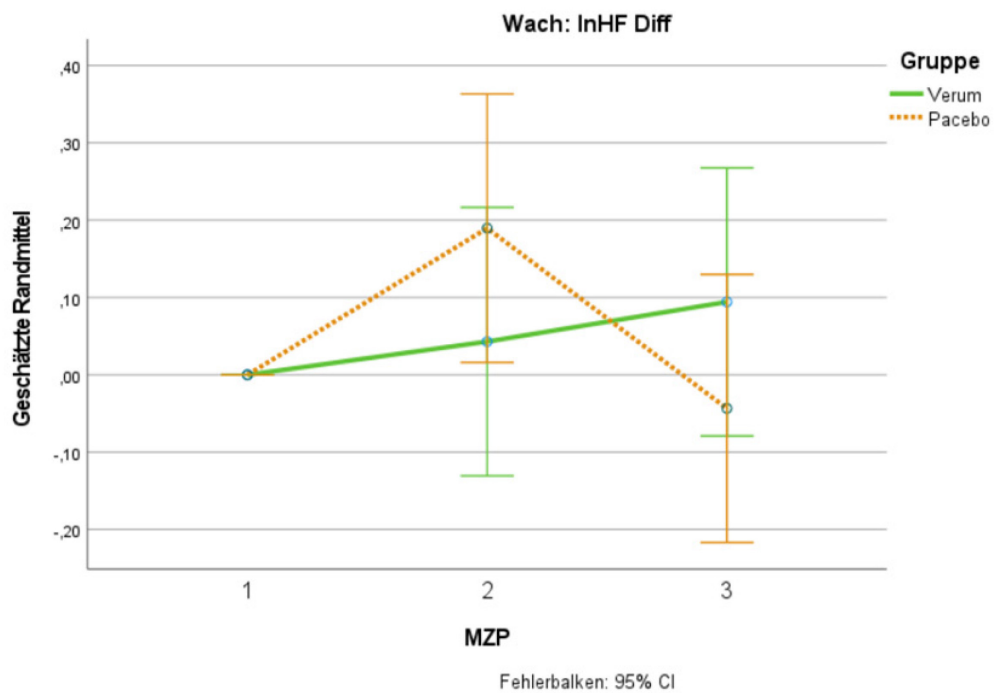


Abbildung 41: Wach InHF Diff

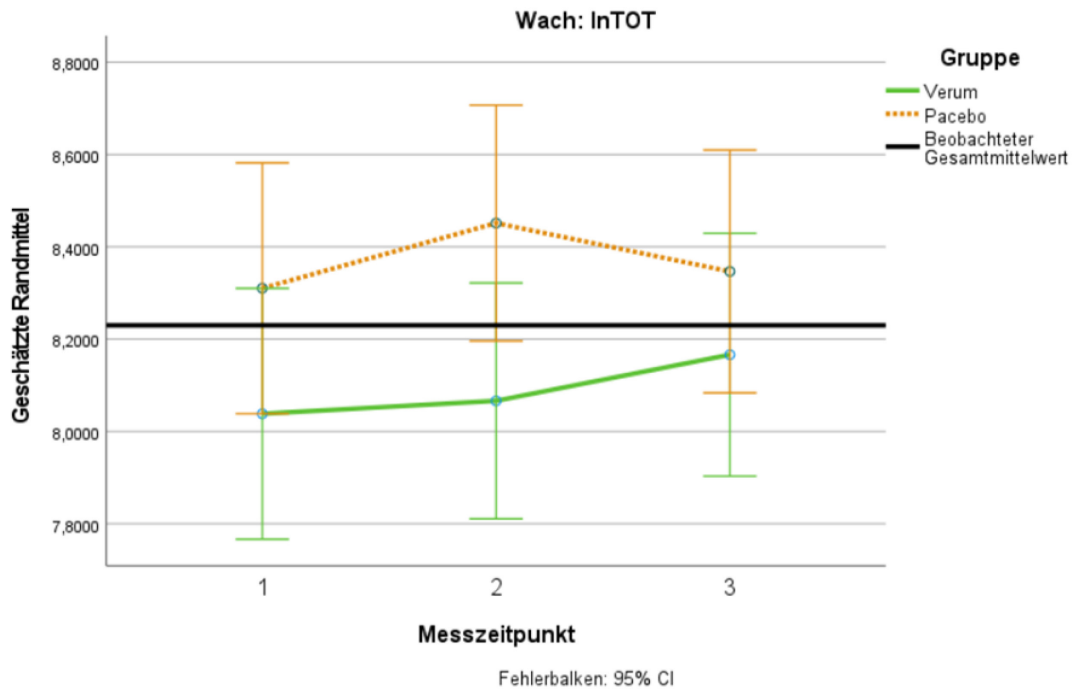


Abbildung 42: Wach InTot

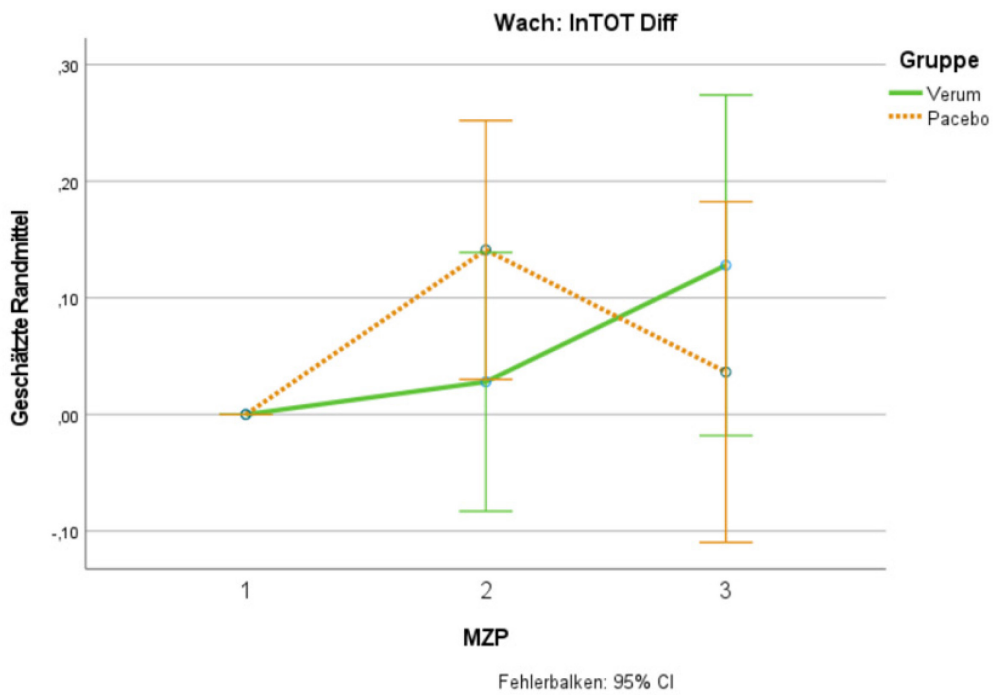


Abbildung 43: Wach InTot Diff

Schlaf von InLF und SDNN:

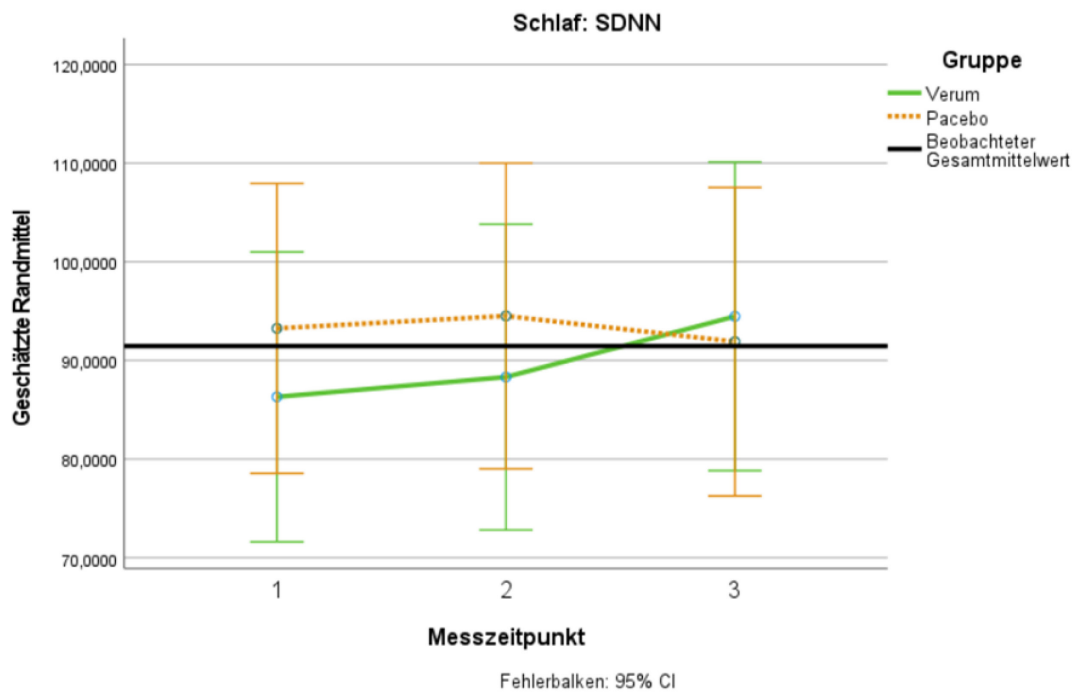


Abbildung 44: Schlaf SDNN

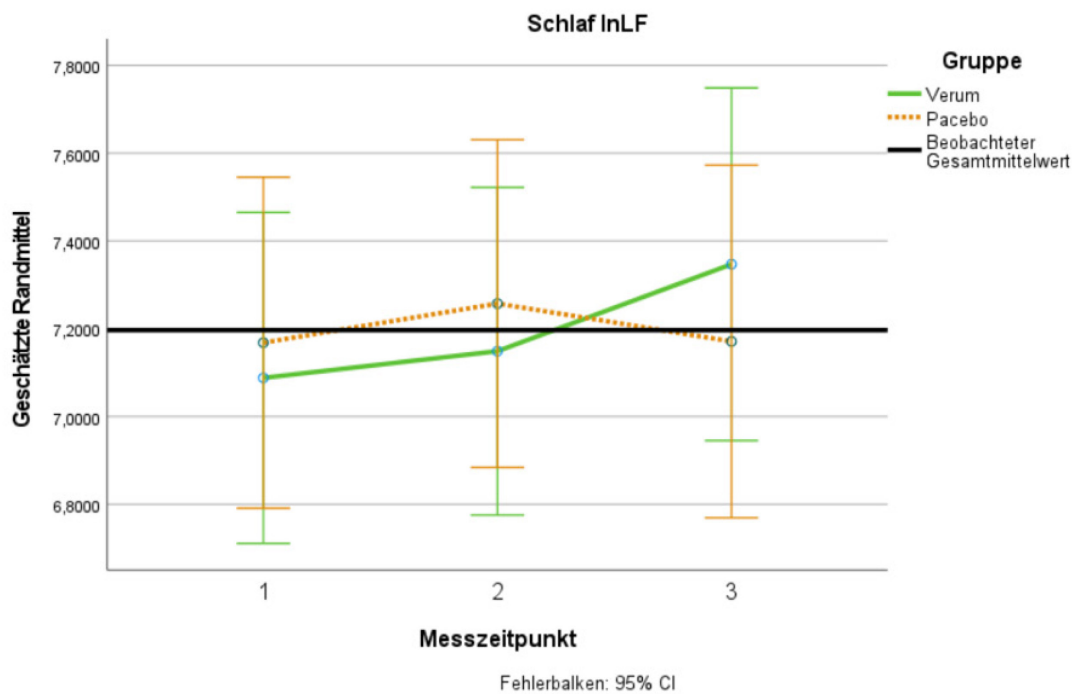


Abbildung 45: Schlaf InLF

Diskussion

In der explorativen Pilotstudie, welche dieser Diplomarbeit zugrunde liegt, wurde die Wirkung des polyphenolhaltigen Saftes der *Aronia melanocarpa* auf die Aktivität des Vegetativen Nervensystems in einem ersten Schritt erforscht. Dies geschah im Rahmen der ESAN II Studie am Institut für Pathophysiologie und Immunologie in Graz.

Aroniasaft wirkt antiinflammatorisch, antioxidativ und wahrscheinlich positiv auf das Mikrobiom. Alle 3 Systeme sind über regulatorische Wege eng mit dem VNS verknüpft. Die Einnahme sollte also Stress für den Organismus auf diesen Ebenen verhindern, was sich in Verbesserung der Resilienz auf vegetativer Ebene äußern müsste (Stresstheorie nach Seyle).

Da sich dies in unterschiedlichen Parameter-Konstellationen darstellen kann (siehe Hypothesenbildung in der Einleitung), war es hier die Absicht die geeignete Konstellation für weitere Studien und bereits Hinweise auf den erwarteten Effekt zu finden. Dazu wurden in einer Interventionsstudie mit Aroniasaft Herzratenvariabilitätsmessungen durchgeführt und folgende Parameter analysiert:

HR(Herzfrequenz), SDNN (Gesamtvariabilität), lnHF (Hochfrequenzband für Vagus Aktivität), logRSA (andere Berechnungsmethode für Vagus Aktivität), lnLF (Niederfrequenzband für Sympathikus dominierte Aktivität), lnTOT (Intensität aller Frequenzbänder, ähnlich SDNN) VQ (Vegetativer Quotient= LF/HF), SQ (vegetative Schlafqualität) und QPA (Puls-Atem-Quotient) im Schlaf.

Methodische Diskussion

Diese Pilotstudie wurde als prospektive doppelblinde und randomisierte Kohorten-Interventionsstudie designt. Dabei wurden zu 3 Zeitpunkten Messungen durchgeführt: unmittelbar vor Intervention (MZP1), nach 6 wöchiger Intervention (MZP2) und nach einer 6-wöchigen Wash-out Phase (MZP3). In der Hauptstudie wurden Parameter des oxidativen Stresses und Mikrobiomanalysen erhoben, während in dieser Studie der Fokus auf Parametern des Vegetativen Nervensystems lag.

Studienpopulation:

An der Studie nahmen 40 Probandinnen teil. Die Studienpopulation bestand ausschließlich aus gesunden weiblichen Probandinnen im Alter von 18-40 Jahren. Somit konnte eine homogene Stichprobe untersucht werden. Die Wahl dieser Einschlusskriterien ist von Bedeutung, da sich die untersuchten Parameter geschlechts- und altersspezifisch unterscheiden. Die Aussage der Ergebnisse ist entsprechend für Männer, Menschen höheren Alters und unterschiedliche ethnische Gruppen eingeschränkt interpretierbar, allerdings werden grundsätzlich ähnliche Effekte erwartet. Es konnte auch innerhalb der Stichprobe kein altersabhängiger Effekt beobachtet werden, wobei dies nur mit einer größeren Stichprobe bewiesen werden hätte können. Eine weiter gefasste Population hätte mit der gewählten Stichprobengröße nicht untersucht werden können.

Die Probandinnen wurden mit Hilfe einer entsprechenden Firma und durch Werbung im Kreis von Medizinstudent*innen rekrutiert. Der Großteil der untersuchten Population sind Studentinnen.

	n	Mittleres Alter		SD	min	max
Gesamt ohne DO	37	25,62		4,64	19	38
Verum	19 (17 zu MZP3)	26,65		4,83	20	38
Placebo	18	24,60		4,22	19	37

Tabelle 11: Deskriptive Statistik Alter der Probandinnen

Es gab 3 Dropouts, dabei handelt es sich um Probandinnen, welche von sich aus in der Interventionsphase beschlossen hatten, nicht mehr an der Studie teilnehmen zu wollen, oder es nicht konnten (2 Placebo, 1 Verum Drop-out). 2 weitere Probandinnen nahmen an der 3. Messung nicht mehr teil (beide Verum), wurden allerdings zu den ersten beiden

Messzeitpunkten im Rahmen des „intention to treat“ Verfahrens in der Auswertung berücksichtigt.

Schließlich bestand die Verum Gruppe aus 19 und die Placebo Gruppe aus 18 Probandinnen. Die Altersverteilung der beiden Gruppen ist in *Tabelle 11* gezeigt. Auch wenn aufgrund der Stichprobengröße keine Stratifizierung auf Alter und Berufsgruppe durchgeführt werden konnte, handelt es sich um zwei homogene und gut vergleichbare Gruppen (siehe Statistik Vorbedingungen für Tests).

Zeitperiode:

Die Durchführung von Intervention und Messungen begann Ende Februar 2019 (21.02.19) und endete Ende Mai (23.05.19). Der Zeitraum wurde bewusst so gesetzt, dass ein Bias durch die deftige Osterdiät vor den Untersuchungen vermieden werden konnte. Außerdem befanden sich so die Messzeitpunkte innerhalb des Lehrsemesters an den Universitäten, was eine erhöhte Anzahl an Dropouts unter den Studentinnen verhindern sollte. Diese machten 31 der 37 Probandinnen aus. Die Studentinnen waren gleichmäßig auf beide Gruppen verteilt (15 Verum, 16 Placebo), weshalb auch kein Bias durch den Studien-Semesterverlauf entstand (Ende des Semesters mehr Prüfungsstress). Ein Bias durch jahreszeitliche Effekte (wie es die Daten widerspiegeln) von der dunklen zur sonnigen Jahreszeit konnte durch die 2 Vergleichsgruppen verhindert werden.

Zu jedem Messzeitpunkt wurden aktuelle Krankheit (Erkältungen) und besondere Stressbelastung erfragt. Diese hielten sich sehr in Grenzen und waren über Studienverlauf und Gruppen hinweg gleichmäßig verteilt.

Die Messungen wurden je im Verlauf einer Arbeitswoche durchgeführt und nach Möglichkeit wurden die Montagsprobandinnen in jedem Durchgang montags untersucht, weil die HRV-Messungen am Tag nach dem Wochenende aus chronobiologischer Erfahrung etwas von der Restwoche abweichen können.

Durchführung:

Die Messungen wurden zeitnahe in einer ersten graphischen Auswertung (wie im Methodenteil gezeigt) beurteilt, um Messfehler, z.B. aufgrund von abgelösten Elektroden zu erkennen, woraufhin frühe Messwiederholungen veranlasst wurden. Dabei konnten keine genauen Tageszeitwerte und schon gar keine Effekte beurteilt werden. Alle

Messwiederholungen waren mit Messfehlern begründet, welche belegt werden können und genau protokolliert wurden. Das führte zu einer sehr hohen Messqualität, was zur Vermeidung eines „Precision Bias“ beiträgt.

Um Störgrößen so gering wie möglich zu halten, fand vor jeder Messung ein kurzes Gespräch mit den Probandinnen statt, in dem nach Protokoll die Vermeidung von Störgrößen auf den Schlaf (Licht, Koffein, Alkohol), die Herzfrequenz und die Herzratenvariabilität (Sport, Alkohol) besprochen wurde. Konnte dies nicht eingehalten werden, so wurden die Probandinnen gebeten bei den Folgemessungen gleiche Bedingungen zu schaffen (z.B. Film schauen vor dem Schlafengehen, Sporteinheit am Nachmittag, etc.).

Es wurden also mit dem Studiendesign Verzerrungen vermieden, in der Durchführung Störgrößen möglichst geringgehalten und in Anbetracht der Gruppengröße umfangreiche Bemühungen angestellt, um eine hohe Präzision der Messungen zu erlangen.

Schwächen:

In dieser Studie gab es geplante und weniger geplante Schwächen und schließlich war auch das Vorgehen bei der Planung nicht perfekt.

Zu den geplanten Schwächen gehört in einer explorativen Pilotstudie, dass die Ergebnisse per se nur eine eingeschränkte Aussagekraft haben und eher als Hinweise zu verstehen sind, welche in weiteren Studien noch bestätigt werden müssen. Sie dienen schließlich auch der Planung dieser Folgestudien.

Es wäre ideal gewesen, in der Studienpopulation eine Gruppierung nach vegetativer Ausgangssituation zum Zeitpunkt vor der Intervention durchzuführen, da es schwierig ist bei einer Person mit bereits niedrigem Belastungs- bzw. hohem Resilienz-Level einen Effekt durch die Intervention zu bewirken. Daraufhin hätte aber eine Stratifizierung erfolgen müssen, um einen „Regression to the Mean Bias“ zu vermeiden. Dazu war die Stichprobe schlichtweg zu klein. Es wären diesbezüglich andere Studienpopulationen in Zukunft interessant (siehe Ausblick).

Eine weitere geplante Schwäche ist, wie bereits erwähnt, dass die Ergebnisse nur eingeschränkt für Männer, ältere Menschen und unterschiedliche ethnische Gruppen zu interpretieren sind und auch keine unterschiedlichen Dosierungen des Saftes untersucht werden konnten.

Weniger geplant in dieser Studie, sind die Probleme, welche in Zusammenhang mit dem Aroniasaft aufgetreten sind.

Zum einen ist der Saft, welcher für die Studie zur Verfügung gestellt worden war, nicht aus biologischem Anbau. Es ist also davon auszugehen, dass geringe Mengen an Pestiziden nachweisbar sind. Gesünder wäre sicher ein biologisches Produkt, für die Studie gab es allerdings keine Alternativen.

Ein weiteres Problem in Zusammenhang mit dem Saft ist, dass dieser leider nicht von allen Probandinnen in der Menge von 200ml/Tag gut vertragen wurde. Die Hälfte der Teilnehmerinnen der Verum Gruppe gab an, gastrointestinale Beschwerden oder Übelkeitsempfinden zu verspüren. Die Intervention konnte allerdings bei allen planmäßig durchgeführt werden, nachdem die Einnahme leicht verändert wurde. Es wurde den Probandinnen empfohlen, den Saft stärker zu verdünnen und in der Früh nicht auf nüchternen Magen einzunehmen. Auf den Effekt hat das keinen Einfluss. Ob hier einzelne Probandinnen die Einnahme unterbrochen haben, ohne es anzugeben, kann nicht mit Sicherheit überprüft werden. Die leeren Saftboxen mussten am Ende der Studie abgegeben werden.

Es muss hier auch ausgeführt werden, dass es Abweichungen in der Planung der Analyse gegeben hat:

Da ich erst im Laufe der Arbeit dieses komplexe Thema mehr und mehr erfassen und selbst Entscheidungen über das Prozedere fällen konnte, wäre vor Beginn der Studie eine umfangreichere Vorbesprechung notwendig gewesen. So hätte gleich zu Beginn die Erfahrung eines fachkundigen Telematikers und eines Statistikers miteinbezogen werden sollen. Das hätte möglicherweise zu einer solideren Planung geführt und es hätte bereits konkretere Hypothesen und das genaue statistische Vorgehen protokolliert und eingereicht werden können, bevor mit der Durchführung der Studie begonnen wurde. Je komplexer ein Forschungsbereich, desto unverzichtbarer ist die Arbeit im interdisziplinären Team. Das ursprünglich geplante Vorgehen erwies sich später als nicht zu 100% umsetzbar.

Das besondere an unserer Studie ist die Beobachtung der Aktivität des Vegetativen Nervensystems über 28 Stunden, womit bei jeder Probandin die Abläufe über einen ganzen Tag erfasst sind. Das ermöglicht auf individueller Ebene ein viel genaueres Verständnis der Prozesse, da die untersuchten Parameter chronobiologischen Gesetzen folgen und Sympathikus und Parasympathikus in dynamischer Wechselwirkung miteinander stehen. Eine

Momentaufnahme, Tagesmittelwerte, oder die Standardabweichung der Herzschlagperioden in 5 Minuten Intervallen sind Analysen, die entsprechend mit Informationsverlust einhergehen.

Wie also kann man die chronobiologischen Abläufe dieses dynamischen Systems am besten in einer Studie erfassen? Die Idee hierzu war es ursprünglich, die Ruhewerte zu 3 festgelegten Zeitintervallen, welche in anderen Studien festgelegt worden waren, zu analysieren. Allerdings stellte sich bei genauer Überprüfung der etwa 115 Messungen heraus, dass viele Probandinnen körperlich aktiv waren und Ruhewerte nur mit starken Abweichungen (flexiblere Analyseintervalle, oder geringere Datenmenge) erhoben werden hätten können. Nach Rücksprache habe ich mich aufgrund der Gruppengröße gegen die Berechnung dieser Werte entschieden.

Es wurde beschlossen, doch wieder eine Analyse längerer Intervalle zu machen, womit sich zeitlich variierende Aktivitäten im Tagesprofil ausglich und die in diesem Fall valideren Werte herangezogen werden konnten. Die Messungen sind auf diese Art gut miteinander vergleichbar, da durch die Aufklärung der Probandinnen vermeintliche Störgrößen vermieden werden konnten.

Um tagesdynamische Unterschiede trotzdem festzuhalten, wurden schließlich Schlaf-, Wachwerte und deren Differenz (zirkadiane Amplitude) erhoben.

Statistik

Die Wahl der Parameter für die Auswertung wurde erst nach Ablauf der Messungen, allerdings noch vor Analyse der Daten endgültig festgelegt. Dies hätte im Idealfall schon zuvor passieren sollen. Eine Analyse wurde erst sehr spät im Verlauf ergänzend durchgeführt: Die GLM der *Differenz zur Ganzzahligkeit der QPA* im Schlaf. Die Berechnung wurde ergänzt, weil sie viel aussagekräftiger als die QPA für sich stehend ist (siehe QPA im Methoden Teil).

Bei der Anzahl an Parametern wäre eine größere Stichprobe notwendig, um mit Sicherheit einen Effekt aufzuzeigen. Dies gilt vor allem für die multivariate Analyse. In der univariaten Analyse wurden nach Cohen mittlere Effektstärken der Ergebnisse erreicht. Es konnten also auch bei dieser Stichprobengröße Hinweise auf Effekte erhalten werden, womit sie für eine Pilotstudie sinnvoll gewählt worden war. Angesichts des explorativen Vorgehens wurde in vollem Bewusstsein der limitierten Aussagen und eher geringen Trennschärfe der Ergebnisse

gearbeitet. Grundsätzlich wurde vom globalen Test beginnend zum Detail hingearbeitet und die nötigen Vorbedingungen für die Tests überprüft. Die Vorbedingungen waren alle erfüllt (siehe Auflistung im Ergebnis Teil: Levene Test auf Homogenität der Varianzen, Mauchli Test auf Sphärizität und Shapiro Wilk Test auf Normalverteilung)

Die Stichprobengröße sollte sich durch geplante weitere Phasen der Studie mit anderen Testgruppen erweitern.

Das statistische Vorgehen wird bei „Interpretation“ (Ergebnisse Diskussion) weiter diskutiert.

Diskussion der Ergebnisse

Beschreibung der Ergebnisse

In der deskriptiven Statistik in *Tabelle 6* sind die Werte aller berücksichtigten Parameter der beiden Testgruppen zu den 3 Messzeitpunkten aufgelistet. Es handelt sich um Normalverteilungen, welche mit Mittelwert und Standardabweichung beschrieben werden. Die meisten Parameter weisen eine steile Verteilungskurve auf. Nur bei den berechneten Amplituden (Also Differenz Wach- Schlaf) ist erkennbar, dass die Verteilungskurven flach verlaufen (große Varianz).

In *Tabelle 7* sind die Effekte von Messzeitpunkt 1- 3 mittels p- und Eta²-Werten aller erhobenen Parameter univariat als auch multivariat (pro Tageszeit) dargestellt. Es zeigen sich im Vergleich Verum zu Placebo von MZP1 (Baseline) zu MZP3 (nach Wash-Out-Phase) in der univariaten Analyse folgende Veränderungen: ein signifikanter kontinuierlicher Anstieg der SDNN und lnLF bei den 24h Werten ($p \leq 0,05$) und niedrige 24h p-Werte von lnTOT und lnHF. Außerdem sind die Wach-Werte von SDNN, lnTot, lnHF und lnLF niedrig ($0,05 \leq p \leq 0,1$; nicht signifikant).

Bei den Parametern logRSA, VQ, HR, SQ (24hMW), QPA (Schlaf) und QPA Diff GZ (Schlaf) zeigen sich keine signifikanten Effekte. Bei diesen Parametern sind die p-Werte der logRSA am niedrigsten.

In den *Abbildung 24 bis Abbildung 31* und *Abbildung 36 bis Abbildung 45* sind die Parameter, welche niedrige bis signifikante p-Werte haben, mittels Liniendiagrammen (grün= Verum, orange= Placebo) über den gesamten Verlauf hinweg dargestellt. Mit roten Sternchen ist der Zeitpunkt der Signifikanz eingezeichnet. Zur besseren Veranschaulichung wurden Differenz-

Diagramme der 24h Mittelwerte erstellt. Es wurde hierfür die Differenz von den Werten zum jeweiligen Messzeitpunkt und den Ausgangswerten (Messzeitpunkt 1) erstellt (1= MZP1-MZP1; 2= MZP2-MZP1; 3= MZP3-MZP1). In den *Abbildung 32 bis Abbildung 35* wurde eine Häufigkeitsangabe in Aufreihung nach Differenzwerten (je MZP3-MZP1) der 4 interessanten Parameter dargestellt, um zu zeigen, dass kein Bias aufgrund von Ausreißern vorliegt. Außerdem zeigen sich graphisch nochmals die erfüllten Vorbedingungen für die Varianzanalyse.

In den graphischen Darstellungen lässt sich bei den Werten von SDNN, lnTOT, lnHF und vor allem von lnLF folgendes erkennen: In der Verum Gruppe kam es zu einem stetigen Anstieg der Werte von MZP1 zu MZP3, während es in der Placebo-Gruppe zu einem Anstieg von MZP1 zu MZP2 und von MZP2 zu MZP3 zu einem Absinken auf die ursprünglichen Werte kam. Das führt dazu, dass sich die Gruppen von MZP1 zu MZP 2 nicht signifikant unterscheiden, von MZP1 zu MZP3 allerdings ein signifikanter Unterschied besteht.

In der Multivariaten Analyse der 4 Parameter, bei welchen sich im 24h Mittelwert ein Effekt zeigt, ergibt sich ein p-Wert von 0,175 und ein Eta² Wert von 0,103. In dieser Analyse zeigt sich also bei mittlerer Effektstärke ein nicht signifikantes Ergebnis.

Interpretation:

Die p-Werte der Multivariaten Testungen mit allen Parametern liegen über $p=0,05$. Die multivariaten Ergebnisse sind also nicht signifikant. Das liegt daran, dass im Rahmen des explorativen Vorgehens die Auswahl der Parameter breit gesetzt wurde und die Stichprobengröße limitiert war. Berücksichtigt man bei der multivariaten Testung nur die 24h Mittelwerte der 4 Parameter, welche interessante Ergebnisse zeigen, liegt der p-Wert bei $p=0,175$. Dieser Wert ist in Anbetracht der Stichprobengröße niedrig, aber noch nicht signifikant. Er sagt aus, dass statistisch gesehen die Wahrscheinlichkeit bei 17,5% liegt, dass die gegebene Anzahl an Parametern nur durch Zufall signifikant verändert ist. Was die Statistik hier allerdings nicht berücksichtigt ist, dass von den 16 (2^4 ; 4 Parameter, $\uparrow\downarrow$) möglichen Konstellationen einer Parameterveränderung bei 4 Parametern nur wenige Konstellationen auch sinnvoll erklärbar wären. Auf sinnvolle Konstellationen wird im Kapitel „Hypothesenbildung“ in der Einleitung eingegangen. Einige Parameter mit niedrigen P-Werten sind zwar nicht signifikant, unterstreichen aber den Verlauf der Parameter, welche signifikant

sind, weil die niedrigen p-Werte all dieser Parameter zusammenpassen und in ihrer Konstellation ein gemeinsames Bild über einen Effekt auf das Vegetativum zeichnen.

Es ist nicht unwahrscheinlich, dass bei einer größeren Studienpopulation auch die über Signifikanzniveau liegenden niedrigen p-Werte signifikant würden.

Sie zeigen sinnvoll zusammenpassende Änderungen von Werten, die für eine erhöhte Herzratenvariabilität (oder Herzrhythmusflexibilität) sprechen. Das Ansteigen des Niederfrequenzbandes in Kombination mit einem nicht-signifikanten Anstieg, jedenfalls aber fehlenden Absinken des Hochfrequenzbandes, und die Werte von SDNN und lnTOT sprechen für eine Aktivierung des Vegetativums im Sinne erhöhter Anpassungsfähigkeit und Resilienz. Man kann vermehrtes Schwingen des Systems im chronobiologischen Sinne vermuten, so wie es bei jungen Menschen mit besonders lebendigem Vegetativum beobachtet wird.

Grund dafür ist nach Stress-Theorie von Selye und laut vorliegender Hypothese die Reduktion von Stressoren. Auf welchen Ebenen dies passiert sein könnte, wird in der Einleitung genau erläutert (OS, Entzündung, Mikrobiom). Auf welcher Ebene dies tatsächlich vorwiegend passiert ist, kann in dieser Studie nicht beantwortet werden. Eine Zusammenschau der Daten von Haupt und Nebenstudie der ESAN II könnte weitere Erkenntnisse bringen.

Bei folgenden Parametern zeigt sich für nachfolgenden Studien eine untergeordnete Bedeutung: Die logRSA weist zwar eher niedrige p-Werte auf, zeigt sich aber bei dieser Interventionsstudie als nicht geeignet, um einen Effekt darzustellen. Hier sollte, bei ähnlicher Intervention, in Zukunft eine Einschränkung auf die lnHF erfolgen. Der VQ ist bei global aktiviertem Vegetativum unverändert, weil er den Quotienten einzelner Komponenten abbildet. Er dient in der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse eher als Kontrollparameter. Ebenso als Kontrollparameter ist die HR zu betrachten, da ein Anstieg der HR Einfluss auf die Interpretation erhöhter Herzratenvariabilität hätte und eher für Stress und mangelnde Erholung im Schlaf stehen würde. Die Höhe des QPA ist als Wert nur eingeschränkt interpretierbar. Von Bedeutung ist die Nähe zur Ganzzahligkeit während Zuständen von Ruhe, vor allem in den Tiefschlafphasen. Diese ideale kardiopulmonale Kopplung tritt in Zuständen von tiefer Entspannung auf und spricht für effiziente Erholung. Die Differenzen aller QPA-Schlafwerte zur nächsten ganzen Zahl (QPA Diff GZ Schlaf) haben sich im Vergleich der beiden Testgruppen im Laufe der Studie nicht signifikant verändert. Möglicherweise sind hier allerdings die REM-Phasen eine Störgröße, welche die QPA-Schlafwerte zu sehr beeinflusst hat. Bevor dieser Parameter in zukünftigen Studien ausgeschlossen wird, sollte noch eine

Analyse der Werte in den Tiefschlafphasen erfolgen. Das war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

Tagesgang:

Es konnten keine spezifischen Veränderungen im Tagesgang, wie zum Beispiel besonders gute Erholung im Schlaf, oder besonders verstärkte Aktivität am Tag nachgewiesen werden. Der deutlichste Effekt präsentiert sich in den 24h Mittelwerten.

Unter Berücksichtigung des Tagesganges der Parameter wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Amplitude (Differenz Wach-Schlaf Werte) sich verstärken würde, was für verstärkte Aktivität am Tag und verstärkte Erholung im Schlaf sprechen würde. Dies wäre vor allem beim Parameter „Vegetativer Quotient“ zu erwarten gewesen, weniger aber bei unspezifischeren Parametern, wie SDNN und lnTOT. Der erwartete Effekt konnte nicht gezeigt werden. Betrachtet man allerdings, wie flach die Verteilungskurve der errechneten Amplituden verläuft, wird klar, dass hier ein Effekt in der Varianzanalyse sehr schwer nachzuweisen wäre (Stichprobengröße) und ein Fehlen des Effektes hier nur mit großer Unsicherheit interpretiert werden kann. Die Amplituden Werte stellen sich also nicht als ideal für diese Untersuchung dar (zumindest als Hauptzielgröße), weil sie im Vergleich zu den anderen Werten eine größere Stichprobe erforderlich machen.

Die SQ (24hMW) (Sleep Quality) ist ein weiterer Parameter, welcher den Tagesgang der Parameter abbildet. Dieser stützt sich allerdings in erster Linie auf die lnHF. Da sich der beobachtete Effekt bei der lnHF am geringsten widerspiegelt und die Werte hier auch nicht signifikant sind, überrascht es nicht, dass die SQ sich im Vergleich der beiden Gruppen nicht signifikant ändert.

Langzeit- vs. Kurzzeit-Effekt:

Schließlich stellt sich die Frage, warum es erst nach 12 Wochen zu einem Effekt im Gruppenvergleich kam, welcher sich direkt nach der 6-wöchigen Intervention nicht zeigte.

Eine mögliche Erklärung wäre, dass es keinen Effekt gab und die Ergebnisse nach 12 Wochen durch Zufall begründet sind. Dagegen spricht allerdings, dass sich in einer passenden Parameterkonstellation kongruente Ergebnisse zeigen.

Die Ergebnisse könnten sich auch durch die Zusammensetzung und Verträglichkeit der Säfte (Verum und Placebo) erklären lassen. In der Verum Gruppe hatte die Hälfte der Probandinnen

Anfangs Probleme mit der Verträglichkeit des Saftes, womit die Einnahme mit einem negativen Gefühl assoziiert wurde. Das könnte erklären, warum der Anstieg der vegetativen Parameter von MZP1 zu MZP2 in der Verum-Gruppe nicht stärker war als in der Placebo-Gruppe. Ein stärkerer Placebo Effekt durch den Placebo Saft als durch den Verum-Saft wäre in diesem Zusammenhang vorstellbar. In der Placebo Gruppe sind SDNN, lnTOT, lnHF und lnLF in der Wash-out Phase wieder abgesunken, während sie in der Verum Gruppe stetig weiter stiegen. Es gab also in der Placebo Gruppe keinen Langzeiteffekt.

Da sich die Säfte nur durch den Gehalt an Polyphenolen (siehe Kapitel „Aronia“ in der Einführung) unterschieden, könnten andere gesunde Bestandteile des Saftes in der Placebogruppe einen kurzfristigen Effekt gehabt haben. Es gibt reichlich Literatur über wohltuende Effekte von weniger polyphenolhaltigen Fruchtsäften.

Der langfristige Anstieg der Werte in der Verum Gruppe wäre vor allem bei einem positiven Effekt auf Ebene des Mikrobioms plausibel erklärbar. Dass Polyphenole einen positiven Effekt auf das Mikrobiom haben können, wurde mehrfach gezeigt (58, 59). Die Zusammensetzung des Mikrobioms wiederum hat deutlichen Einfluss auf das Aktivität des Vegetativums, wie bei Stressreaktion (208) und Angstverhalten(209, 210) gezeigt wurde. Siehe auch „Mikrobiom-Darm-Vagus“ in der Einführung dieser Arbeit. Eine sehr detailreiche Analyse, wie sich Aronia auf das Mikrobiom auswirkt wurde von Ista et. Al. 2019 publiziert (15). Unter anderem wurde eine Zunahme von Bacteroiden identifiziert, was in anderen Studien mit Gewichtsverlust(211) und bei deren Fehlen mit entzündlichen Darmerkrankungen assoziiert wurde(212).

Um die Beobachtung eines Langzeiteffektes besser einordnen zu können, sollten in einer Folgestudie mehrere Messzeitpunkte gewählt werden und Veränderungen des Mikrobioms in Korrelation mit HRV Parametern untersucht werden. Außerdem sollte auf eine besser verträgliche Einnahme des Saftes in beiden Gruppen geachtet werden.

Forschungsfrage:

Die Aufgabe dieser Pilotstudie ist es nicht, einen Effekt mit Sicherheit zu beweisen, sondern Beobachtungen zu machen, die ein weiteres Vorgehen begründen.

Die Interpretation der Ergebnisse zusammenfassend, soll im Folgenden die Forschungsfrage beantwortet werden:

Es lässt sich hier ein leichter Effekt im Sinne gesteigerter Resilienz auf HRV-Ebene beobachten, der in Anbetracht von kleiner Stichprobengröße und kongruenten Ergebnissen der unterschiedlichen Parameter (InLF, InHF, SDNN, InTOT) zu beachten ist.

In einer Folgestudie sollte der Fokus auf die 24h MW der Parameter InLF, InHF, SDNN und InTOT gelegt werden. Auf Basis der hier erhaltenen Werte, kann in Abhängigkeit der Anzahl der Messzeitpunkte und Parameter, sowie der gewünschten Power, die nötige Stichprobengröße für eine, die Ergebnisse erhärtende Folgestudie, berechnet werden.

Im Rahmen dieser Studie konnten für Folgestudien keine geeigneten Parameter zur Beurteilung von Veränderungen des Tagesganges ausfindig gemacht werden. Die SQ in der ersten Tiefschlafphase sollte hierzu noch analysiert werden.

Die genauere Untersuchung eines Langzeiteffektes mittels zusätzlicher Messzeitpunkte, z.B. nach 10 oder 14 Wochen, sollte in Folgestudien untersucht werden. Weitere Aspekte für zukünftige Studien, wie die Wahl der Testgruppen, wird im Ausblick unter „Blickpunkte zukünftiger Studien“ genauer beleuchtet.

Vergleichbare Studien mit Aronia und Relevanz dieser Studie:

Zur Zusammensetzung der Aronia, dem Metabolismus und der Wirkung der Inhaltsstoffe in Laborversuchen gibt es zahlreiche Publikationen (1, 8). Auch die positive Wirkung von Aronia bei der Prävention und Bekämpfung metabolischer und kardiovaskulärer Erkrankungen ist hinreichend untersucht(213). An Gesunden wurde, wie oben beschrieben, die Wirkung auf das Mikrobiom erforscht.

Allerdings konnten keine Studien gefunden werden, welche bei Einnahme von Aronia die autonome Regulation mittels HRV Messungen mitbetrachteten. Vergleichbare Studien gibt es bisher nur anhand von Tierversuchen und mit anderen Polyphenolen.

Es konnte gezeigt werden, dass Hasen, welchen man über einen längeren Zeitraum Kakao-Polyphenole verabreichte, auf VNS Ebene jugendlich blieben. Während in der Vergleichsgruppe beim Altern der Parasympathikotonus abnahm, blieb er bei den „Kakao-Hasen“ auf den höheren ursprünglichen Werten (214).

Zu ähnlichen Ergebnissen kam man mittels HRV Messung bei Ratten denen Resveratrol oder Traubensaft verabreicht wurde (215).

Die Durchführung einer HRV-Messung am Menschen bei Einnahme von Aronia mit ihren Polyphenolen liegt also nahe und scheint wissenschaftlichen Neuwert zu haben. Außerdem ist

die Kombination an Parametern aus dieser Nebenstudie und der ESAN II Hauptstudie einzigartig. Es können also Parameter korreliert werden, wie es zuvor noch nicht möglich war. Das explorative Vorgehen wurde in diesem ersten Schritt aufgrund mangelnder Vorstudien und der Absicht, keine Hinweise zu übersehen, gewählt. Auf dieser Basis kann eine präzisere Hypothese aufgestellt und überprüft werden. In Weiteren Schritten kann an Gruppen, welche Stressoren ausgesetzt sind, überprüft werden, ob die Resilienz auf VNS Ebene mit Hilfe von Aroniasaft verbessert werden kann.

Ausblick

In diesem Teil möchte ich darauf eingehen, welche Analysen mit den vorliegenden Daten noch durchgeführt werden können, welche Blickpunkte in das weitere Vorgehen einfließen könnten und welche Gruppen in Zukunft noch erforscht werden sollten.

Analysen aus erhobenen Daten:

Hat man das Bestreben in der Analyse der Daten, den Tagesgang weiter zu berücksichtigen, so ist ohne gegebene Laborbedingungen die erste Tiefschlafphase der am besten vergleichbare Analysezeitpunkt. Ein Analyse-Intervall könnte mit der niedrigsten Herzrate nach dem Einschlafen, welche für 10 Minuten andauert, beginnen (216, 217). Verstärkte Regeneration im Tiefschlafintervall würde die hier vorliegenden Beobachtungen deutlich unterstreichen und die chronobiologisch geordnete Funktionsweise des Vegetativen Nervensystems miteinfassen. Bis zum Zeitpunkt der Beendigung der Diplomarbeit war diese Analyse unserer Daten aus technischen Gründen nicht möglich, sie sollte aber vor Planung zukünftiger Studien noch erfolgen. Analyseintervalle, welche auf den ganzen Tag verteilt sind, könnten nur unter Laborbedingungen oder einer sehr großen Stichprobe untersucht werden, da Tagesaktivitäten zu einer punktuell zu starken Abweichung der Herzrate führen, wie bei dieser Studie festgestellt werden musste.

Eine weitere Analyse, welche noch geschehen sollte, ist die Korrelation der Daten aus der ESAN II Hauptstudie und der dieser Diplomarbeit zugrundeliegenden Nebenstudie. Vor allem in Hinblick auf Veränderungen des Mikrobioms, aber auch von Parametern des „oxidativen

Zustandes“, könnte dies zu einem besseren Verständnis der erhaltenen Ergebnisse führen. Es wäre auch der Verlauf der Placebogruppe möglicherweise deutlicher zu interpretieren. Aufgrund der komplexen Methodik in der Erhebung all dieser Parameter und entsprechend auch deren Interpretation hätte das den Rahmen dieser Diplomarbeit gesprengt. Dies sollte allerdings in weiteren Schritten erfolgen, da die Kombination an erhobenen Parametern ein Alleinstellungsmerkmal der ESAN II Studie ist und somit wissenschaftlichen Neuwert hat.

Blickpunkte zukünftiger Studien:

Aus der „Interpretation der Ergebnisse“ geht bereits hervor, welche Parameter jedenfalls für ähnliche Studien in der Zukunft und weitere Phasen der ESAN II Studie von Bedeutung sind, nämlich: SDNN, lnHF, lnLF und lnTOT.

Da es in der Analyse Hinweise auf einen langfristigen Effekt gibt, wäre es in zukünftigen Studien sinnvoll, Beobachtetes zu mehreren Messzeitpunkten nach Intervention genauer zu eruieren. Bei 6 Wochen dauernder Intervention könnte z.B. eine Erhebung der Parameter nach 6, 10, 12 und 14 Wochen durchgeführt werden. Dies könnte zu einem genaueren Verständnis über den möglichen Wirkeintritt und die Wirkdauer der Intervention beitragen. Bei häufigeren Messungen kann auch mit einer kleinen Population Aussagekraft gewonnen werden.

Ein anderer Blickpunkt, dessen Berücksichtigung in einer Zukünftigen Studie Mehrwert bringen könnte, erfordert eine große Studienpopulation, oder kluge Wahl der Testgruppe. Die gesetzte Intervention hat wahrscheinlich unterschiedliche Wirkung auf die ProbandInnen, in Abhängigkeit der „Vegetativen Ausgangssituation“, also der Werte-Konstellation der erhobenen Parameter des VNS. Ist bei einer Person die Vagus-Aktivität dominant, so ändern sich bei Reduktion von Stressoren die Parameter anders als bei einer Person mit dominanter Sympathikus-Aktivität. Eine Gruppierung nach „Vegetativer Ausgangssituation“ würde die Analyse einer heterogeneren Population ermöglichen, womit leichter signifikante Effekte gezeigt werden könnten. Eine elegante Möglichkeit, eine homogenere „Vegetative Ausgangssituation“ zu erreichen, ist es, eine Testgruppe zu wählen, bei der mehr interindividuelle Ähnlichkeit zu erwarten ist. Dies könnte bei depressiven ProbandInnen im Vergleich zu Gesunden der Fall sein. Parameter, an denen man die „Vegetative

Ausgangssituation“ festmachen könnte, sind in erster Linie HR und VQ, vielleicht auch die „Autonome Vitalität“ (Produkt von lnHF und lnLF (logarithmische Werte))

Ein relevantes Thema könnte der Zeitpunkt sein, zu dem der Aroniasaft eingenommen wird. Wenn es um die antioxidative Wirkung geht, hat eine abendliche Einnahme möglicherweise weniger Effekt, da abends ein sehr potentes körpereigenes Antioxidans ausgeschüttet wird, nämlich Melatonin. Viele oxidative Zustände im Körper unterliegen einer zirkadianen Rhythmik, wie unter „Melatonin, oxidativer Stress und Schlaf“ dieser Arbeit erläutert wird.

Studienpopulationen:

1) Adipositas:

Eine interessante Testgruppe, welche im Rahmen der ESAN II Studie geplant wurde, sind adipöse Probandinnen. Aronia ist ein vielversprechendes Mittel zum Abnehmen, weil es aufgrund seiner Bitterstoffe den Appetit reduziert (218) und weil die Literatur darauf hinweist, dass sie sowohl die Stoffwechselaktivität, als auch die Zusammensetzung des Mikrobioms dahingehend positiv beeinflussen würde (59, 61, 120, 219) (siehe auch Kapitel: „Aronia-Mikrobiom“ und „Mikrobiota-Darm-Vagus“). Auch hier wäre die Analyse des VNS interessant, um herauszufinden, welchen Anteil am pathophysiologischen Geschehen die Vagus-Aktivität trägt.

Oft ist die gestörte Appetitregulation in Menschen mit Adipositas mit vagaler Dysfunktion einhergehend (220, 221) und das Fettgewebe verursacht Entzündung und metabolisch oxidativen Stress (121). Bei der Appetitregulation spielt der NV als Mediator von orexigenen und anorexigenen Substanzen eine wesentliche Rolle. Gelänge es, durch Reduktion von oxidativem Stress und Entzündung, das VNS zu aktivieren und die vagale Aktivität zu erhöhen, könnte sich dies positiv auf die Appetitregulation von Menschen mit Adipositas auswirken. Außerdem könnte man durch die antiinflammatorische Wirkung möglicherweise auch Folgen wie Diabetes Mellitus oder kardiovaskuläre Erkrankungen verhindern (222).

Des Weiteren läge hier eine Testgruppe vor, bei der eine deutlichere Veränderung des Mikrobioms zu erwarten wäre als in Gesunden, was sich wiederum in Parametern der HRV Messung widerspiegeln könnte.

Wenn es um die Untersuchung von Effekten basierend auf der Stress Theorie geht, so ist die zweite angedachte Studienpopulation von Seiten des vegetativen Nervensystems von besonderem Interesse. Bei der Depression handelt es sich um einen Zustand, bei dem eine Vielzahl von Stressoren eine Rolle spielen.

2) Depression:

Ätiopathogenese und Zusammenhang mit VNS:

Neben ätiopathogenetischen Faktoren, wie genetischer Prädisposition, Persönlichkeitsfaktoren, reaktiven Faktoren und neuroendokrinen Veränderungen, sind auch folgende Faktoren, welche in Zusammenhang mit dem VNS, vor allem der Vagus-Aktivität, stehen, für die Entstehung von Depression verantwortlich:

1. **Somatischer Faktor:** körperliche Erkrankungen, Medikamente, physikalische Einwirkungen (wie Licht) (223)
2. **Chronische Stressüberlastung:** Bei chronisch erhöhten Kortisol-Spiegeln verändert sich die Rezeptorkonstellation im Hypothalamus, hin zu weniger sensiblen Mineralokortikoid-Rezeptoren (Typ II Rezeptoren), und die negative Rückkoppelung funktioniert nicht mehr. Das verursacht dauerhaft erhöhte Spiegel und geht, aufgrund der verringerten Glukoseverwertung im ZNS, mit einer Hippocampus-Degeneration einher. Folge sind Stressemenz und leichtere Irritierbarkeit, sowie Agitiertheit. Es wird in Folge bei Depressiven auch eine Überaktivität in der Amygdala beobachtet. 50% der Patient*innen weisen einen pathologischen Dexamethason-Suppressionstest auf. In der Erforschung der Depression, wird diese bei Mäusen durch Stressoren induziert.
3. **Monoamin-Hypothese:** Eine Dysbalance der zentralen Neurotransmitter, sowie Veränderungen auf Ebene der Rezeptoren, spielen eine Rolle. Das zeigt sich auch bei der Wirkung von Antidepressiva und ihrer Wirklatenz auf Rezeptorebene (223).
4. **Chronobiologische und Vegetative Dysregulation:** Einige Betroffene haben saisonale depressive Episoden. Das hat mit dem Vorhandensein von Licht zu tun, denn ohne Lichtwirkung wird aus Serotonin Melatonin gebildet. Wenn keine Anpassung stattfindet, ist die Folge ein Serotoninmangel.

Für ein gut funktionierendes VNS, welches mit effektivem Bewältigen der täglichen Herausforderungen und einer darauffolgenden effektiven Regeneration einhergeht,

braucht es Rhythmik und eine zeitliche Ordnung über den Tag hinweg. Diese etablierte Rhythmik zeigt sich besonders schön bei Messungen am erholsamen Schlaf (193). Bei Depressiven sind die zirkadianen Rhythmen oft nicht synchronisiert, was zu vegetativen Symptomen und einer Veränderung des Schlafes führt (längere Einschlafdauer, geringere REM-Latenz, morgendliches Früherwachen). Schlafentzug hilft, weil er eine synchronisierende Wirkung hat (223).

5. **Entzündung und oxidativer Stress:** Schon länger ist es bekannt, dass in depressiven Menschen inflammatorische Zytokine, wie IL-6 (223) und TNF- α (90) erhöht sind. Es wurde gezeigt, dass chronisch erhöhte Zytokin-Exposition Depression induzieren kann (224) und zu niedrigeren Serotonin-Spiegeln führt (225).

In den letzten Jahren haben zahlreiche Ergebnisse gezeigt, dass die Gehirne der Betroffenen auch unter oxidativem Stress stehen, bzw sich OS negativ auf das Ausmaß von Depression auswirkt (226, 227)

In den letzten 2 Jahren gab es einige erfolgreiche Versuche an Mäusen und Ratten, mittels Antioxidantien antidepressive und anxiolytische Effekte zu bewirken. Eingesetzt wurden Selen, Indolyderivate und die Polyphenole Resveratrol und Quercetin. Mit Quercetin wurde in stressinduziert depressiven Mäusen eine Erhöhung der 5HT Spiegel bewirkt. Bei Resveratrol wurde auch eine Regulation der HPA Achse und Umkehr ihrer negativen Effekte beobachtet (228-230).

6. **Dysbalance im Mikrobiom:** Bei der Transplantation von Stuhlproben depressiver Patienten in keimfreie Mäuse, wurde bei diesen Depression verursacht (231). Auf einige, die zugrundeliegenden Effekte, wurde im Kapitel „Mikrobiom-Darm-Vagus“ eingegangen. Stress ändert die Zusammensetzung des MB und verändert die Darmpermeabilität, was mit Entzündung einhergeht (110). Ein gesundes MB wirkt antiinflammatorisch. Wie bei Laktobacillus rhamnosus (103) und Bifidobakterium longum (102) gezeigt, können sich Mikrobiota positiv auf Verhalten und Stimmung auswirken. Das MB aktiviert den VN und das ZAN. Es gibt Mikrobiota, welche Serotonin oder die Vorstufe Tryptophan produzieren, und sich so wahrscheinlich auf die Stimmung auswirken (107). Eine ähnliche Krankheit, bei der diese Zusammenhänge sich deutlich zeigen, ist das Reizdarmsyndrom (110).

7. **Geringe Vagusaktivität:** Die hier aufgelisteten Punkte können alle Folge von zu geringer vagaler Aktivität sein oder diese verursachen. Auf die meisten dieser Verbindungen bin ich bereits in den Kapiteln zuvor genauer eingegangen. Die Verknüpfung mit der Monoamin

Hypothese wurde in dieser Arbeit noch nicht erläutert. Es gibt die Beobachtung, dass elektrische Stimulation des Vagus Nerv zu einer erhöhten Konzentration an Serotonin, Noradrenalin, Dopamin und GABA im Liquor und relevanten Hirnregionen führt (109, 232-235). Dies führte auch schon zu therapeutischen Neuheiten (236-240). Auch Studien zur HRV in Depressiven weisen auf eine Verknüpfung hin (241). Viele weitere Publikationen unterstreichen die umgekehrte Relation zwischen vagaler Aktivität und Depression (242-244).

Depressive Proband*innen sind gut geeignet, um Erkenntnisse über das potenzielle Ausmaß, welches unterschiedliche Stressoren auf einen Organismus haben können, zu gewinnen. Es kann mit diesen Proband*innen ein besseres Verständnis, über Interventionen zur Reduktion unterschiedlicher Stressoren, wie z.B. OS oder Entzündung, gewonnen werden. Bei Erfolg ist eine Erhöhung der Aktivität des VNS- und NV zu erwarten. Es könnte also durch eine Intervention mit Aroniasaft bei Depressiven zu einer Verringerung von Stressoren, und damit einer Besserung der depressiven Symptomatik kommen, wie in *Abbildung 46* dargestellt. Die Parameter der Funktionalität des VNS korrelieren, laut einer Metaanalyse mit 3947 Probanden, stärker als alle anderen betrachteten Parameter, wie Blutglukose, Blutfette und Immunparameter, mit der Eigeneinschätzung von Gesundheit („self rated health“) und somit dem subjektiven Wohlbefinden (245).

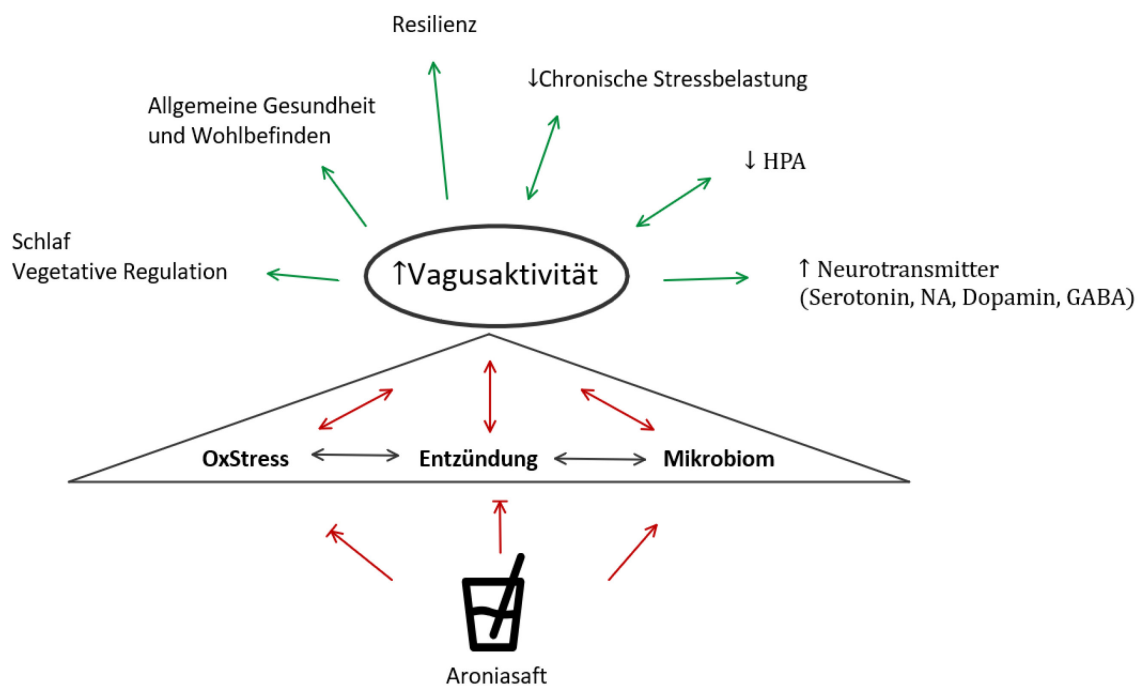


Abbildung 46 Aroniasaft, VNS und Depression

Saftglas: CC by icons-icons.com

Literaturverzeichnis

1. Jurikova T, Mlcek J, Skrovankova S, Sumczynski D, Sochor J, Hlavacova I, et al. Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. *Molecules*. 2017;22(6).
2. Borowska S, Brzóska MM. Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) and Their Products as a Possible Means for the Prevention and Treatment of Noncommunicable Diseases and Unfavorable Health Effects Due to Exposure to Xenobiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016;15(6):982-1017.
3. CAPANOGLU MVARE. of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Journal of food and nutrition research*. 2013;52(4):219-29.
4. Cretu GC, Morlock GE. Analysis of anthocyanins in powdered berry extracts by planar chromatography linked with bioassay and mass spectrometry. *Food Chem*. 2014;146:104-12.
5. Rugina D, Sconta Z, Leopold L, Pintea A, Bunea A, Socaciu C. Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumor cells. *J Med Food*. 2012;15(8):700-6.
6. Sójka M, Kołodziejczyk K, Milala J. Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by-products. *Industrial crops and products*. 2013;51:77-86.
7. Wilkes K, Howard LR, Brownmiller C, Prior RL. Changes in chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) polyphenols during juice processing and storage. *J Agric Food Chem*. 2014;62(18):4018-25.
8. Wallace TC, Giusti MM. Anthocyanins. *Adv Nutr*. 2015;6(5):620-2.
9. Denev PN, Kratchanov CG, Ciz M, Lojek A, Kratchanova MG. Bioavailability and Antioxidant Activity of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Polyphenols: in vitro and in vivo Evidences and Possible Mechanisms of Action: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2012;11(5):471-89.
10. Raimondi S, Anighoro A, Quartieri A, Amaretti A, Tomas-Barberan FA, Rastelli G, et al. Role of bifidobacteria in the hydrolysis of chlorogenic acid. *Microbiologyopen*. 2015;4(1):41-52.
11. Tomas-Barberan F, Garcia-Villalba R, Quartieri A, Raimondi S, Amaretti A, Leonardi A, et al. In vitro transformation of chlorogenic acid by human gut microbiota. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(5):1122-31.
12. Couteau D, McCartney AL, Gibson GR, Williamson G, Faulds CB. Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyse chlorogenic acid. *J Appl Microbiol*. 2001;90(6):873-81.
13. Stalmach A, Williamson G, Crozier A. Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food Funct*. 2014;5(8):1727-37.
14. Sochor J, Ryvolova M, Krystofova O, Salas P, Hubalek J, Adam V, et al. Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: advantages and disadvantages. *Molecules*. 2010;15(12):8618-40.
15. Istas G, Wood E, Le Sayec M, Rawlings C, Yoon J, Dandavate V, et al. Effects of aronia berry (poly) phenols on vascular function and gut microbiota: a double-blind randomized controlled trial in adult men. *The American journal of clinical nutrition*. 2019;110(2):316-29.
16. Zhong S, Liu J, Ren X, Zhang J, Zhou S, Xu X-P. Pharmacokinetics and excretion of chlorogenic acid in beagle dogs. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008;63(7):520-4.
17. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
18. Fanjul-Moles ML, Lopez-Riquelme GO. Relationship between Oxidative Stress, Circadian Rhythms, and AMD. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:7420637.
19. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.

20. Takaki J. Associations of job stress indicators with oxidative biomarkers in Japanese men and women. *International journal of environmental research and public health*. 2013;10(12):6662-71.
21. Greilberger JÖ, K. SSM Ernährung, Oxidativer Stress und Sport. Vorlesungsunterlagen ed. Medizinische Universität Graz 2020.
22. Zuo S, Boorstein RJ, Teebor GW. Oxidative damage to 5-methylcytosine in DNA. *Nucleic acids research*. 1995;23(16):3239-43.
23. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal*. 1996;313(Pt 1):17.
24. Esterbauer H, Gieseg S, Giessauf A, Ziouzenkova O, Ramos P. Role of natural antioxidants in inhibiting Cu²⁺-mediated oxidation of LDL. Bellomo, G; Finardi, G; Maggi, E. 1995:11-26.
25. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American journal of cardiology*. 2003;91(3):7-11.
26. Sugamura K, Keaney Jr JF. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;51(5):978-92.
27. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free radical biology and medicine*. 2010;49(11):1603-16.
28. Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*. 2007;74(4):324-9.
29. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan R. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology*. 2009;7(1):65-74.
30. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012(3):Cd007176.
31. Traber M. DARTH VITAMIN: HAS E GONE TO THE DARK SIDE?: P14. *Free Radical Biology and Medicine*. 2005;39.
32. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Kloting N, Birringer M, Kiehntopf M, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(21):8665-70.
33. Kamenickova A, Anzenbacherova E, Pavek P, Soshilov AA, Denison MS, Zapletalova M, et al. Effects of anthocyanins on the AhR-CYP1A1 signaling pathway in human hepatocytes and human cancer cell lines. *Toxicol Lett*. 2013;221(1):1-8.
34. Ullah R, Khan M, Shah SA, Saeed K, Kim MO. Natural Antioxidant Anthocyanins-A Hidden Therapeutic Candidate in Metabolic Disorders with Major Focus in Neurodegeneration. *Nutrients*. 2019;11(6).
35. Wink M. Wie funktionieren Phytopharmaka?-Wirkmechanismen der Vielstoffgemische. *Zeitschrift für Phytotherapie*. 2005;26(06):262-70.
36. Wink M. Pflanzliche Vielstoffgemische im Vergleich zu Monosubstanzen. *SCHWEIZERISCHE ZEITSCHRIFT FÜR GANZHEITS MEDIZIN*. 2008;20(3):142.
37. Kim B, Park Y, Wegner CJ, Bolling BW, Lee J. Polyphenol-rich black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract regulates the expression of genes critical for intestinal cholesterol flux in Caco-2 cells. *J Nutr Biochem*. 2013;24(9):1564-70.
38. Malinowska J, Babicz K, Olas B, Stochmal A, Oleszek W. *Aronia melanocarpa* extract suppresses the biotoxicity of homocysteine and its metabolite on the hemostatic activity of fibrinogen and plasma. *Nutrition*. 2012;28(7-8):793-8.
39. Olas B, Wachowicz B, Nowak P, Kedzierska M, Tomczak A, Stochma A, et al. Studies on antioxidant properties of polyphenol-rich extract from berries of *Aronia melanocarpa* in blood platelets. *Acta physiologica Polonica*. 2008;59(4):823.
40. Ryszawa N, Kawczynska-Drozdz A, Pryjma J, Czesnikiewicz-Guzik M, Adamek-Guzik T, Naruszewicz M, et al. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol*. 2006;57(4):611-26.

41. Ciocoiu M, Badescu M, Badulescu O, Tutunaru D, Badescu L. Polyphenolic extract association with renin inhibitors in experimental arterial hypertension. 2013.
42. Sikora J, Broncel M, Mikiciuk-Olasik E. Aronia melanocarpa Elliot reduces the activity of angiotensin i-converting enzyme-in vitro and ex vivo studies. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:739721.
43. Broncel M, Kozirog M, Duchnowicz P, Koter-Michalak M, Sikora J, Chojnowska-Jeziarska J. Aronia melanocarpa extract reduces blood pressure, serum endothelin, lipid, and oxidative stress marker levels in patients with metabolic syndrome. *Medical science monitor*. 2009;16(1):CR28-CR34.
44. Kim JH, Auger C, Kurita I, Anselm E, Rivoarilala LO, Lee HJ, et al. Aronia melanocarpa juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nitric Oxide*. 2013;35:54-64.
45. Valcheva-Kuzmanova S, Kuzmanov K, Tancheva S, Belcheva A. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Aronia melanocarpa fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2007;29(2):101-5.
46. Qin B, Anderson RA. An extract of chokeberry attenuates weight gain and modulates insulin, adipogenic and inflammatory signalling pathways in epididymal adipose tissue of rats fed a fructose-rich diet. *Br J Nutr*. 2012;108(4):581-7.
47. Dragan S, Andrica F, Serban MC, Timar R. Polyphenols-rich natural products for treatment of diabetes. *Curr Med Chem*. 2015;22(1):14-22.
48. Gąsiorowski K, Szyba K, Brokos B, Kozł, Iaczyńska B, Jankowiak Wx, et al. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from Aronia melanocarpa fruits. *Cancer Letters*. 1997;119(1):37-46.
49. Malik M, Zhao C, Schoene N, Guisti MM, Moyer MP, Magnuson BA. Anthocyanin-rich extract from Aronia melanocarpa E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutr Cancer*. 2003;46(2):186-96.
50. Sharif T, Stambouli M, Burrus B, Emhemmed F, Dandache I, Auger C, et al. The polyphenolic-rich Aronia melanocarpa juice kills teratocarcinoma cancer stem-like cells, but not their differentiated counterparts. *Journal of Functional Foods*. 2013;5(3):1244-52.
51. Kedzierska M, Olas B, Wachowicz B, Glowacki R, Bald E, Czernek U, et al. Effects of the commercial extract of aronia on oxidative stress in blood platelets isolated from breast cancer patients after the surgery and various phases of the chemotherapy. *Fitoterapia*. 2012;83(2):310-7.
52. Valcheva-Kuzmanova S, Marazova K, Krasnaliev I, Galunska B, Borisova P, Belcheva A. Effect of Aronia melanocarpa fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2005;56(6):385-92.
53. Valcheva-Kuzmanova S, Belcheva A. Current knowledge of Aronia melanocarpa as a medicinal plant. *Folia medica*. 2006;48(2):11-7.
54. Park S, Kim JI, Lee I, Lee S, Hwang MW, Bae JY, et al. Aronia melanocarpa and its components demonstrate antiviral activity against influenza viruses. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;440(1):14-9.
55. Appel K, Meiser P, Millan E, Collado JA, Rose T, Gras CC, et al. Chokeberry (Aronia melanocarpa (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF-kappaB and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*. 2015;105:73-82.
56. Martin DA, Taheri R, Brand MH, Draghi A, Sylvester FA, Bolling BW. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. *Journal of Functional Foods*. 2014;8:68-75.
57. Xu J, Mojsoska B. The immunomodulation effect of Aronia extract lacks association with its antioxidant anthocyanins. *J Med Food*. 2013;16(4):334-42.
58. Cardona F, Andres-Lacueva C, Tulipani S, Tinahones FJ, Queipo-Ortuno MI. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *J Nutr Biochem*. 2013;24(8):1415-22.
59. Cai J, Zhang L, Jones RA, Correll JB, Hatzakis E, Smith PB, et al. Antioxidant drug tempol promotes functional metabolic changes in the gut microbiota. *Journal of proteome research*. 2016;15(2):563-71.

60. Duenas M, Munoz-Gonzalez I, Cueva C, Jimenez-Giron A, Sanchez-Patan F, Santos-Buelga C, et al. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *Biomed Res Int*. 2015;2015:850902.
61. Rastmanesh R. High polyphenol, low probiotic diet for weight loss because of intestinal microbiota interaction. *Chem Biol Interact*. 2011;189(1-2):1-8.
62. Zagon A. Does the vagus nerve mediate the sixth sense? *Trends in neurosciences*. 2001;24(11):671-3.
63. Behrends JCa. *Physiologie. Physiologie. 3. Duale Reihe* ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2017.
64. Schmidt RFS, H. G. *Neuro- und Sinnesphysiologie. Neuro- und Sinnesphysiologie. 5.* Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2006.
65. Trepl M. *Neuroanatomie. Neuroanatomie. 4.* München: Elsevier GmbH; 2008.
66. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420(6917):853-9.
67. Pavlov VA, Tracey KJ. Neural regulation of immunity: molecular mechanisms and clinical translation. *Nat Neurosci*. 2017;20(2):156-66.
68. Schemann M, Neunlist M. The human enteric nervous system. *Neurogastroenterology & Motility*. 2004;16:55-9.
69. Schemann M. Control of gastrointestinal motility by the “gut brain”-the enteric nervous system. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2005;41:S4-S6.
70. Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR, Cho H-J. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Microbial endocrinology: The microbiota-gut-brain axis in health and disease*: Springer; 2014. p. 39-71.
71. Furness JB. Integrated neural and endocrine control of gastrointestinal function. *The Enteric Nervous System*: Springer; 2016. p. 159-73.
72. Kapcala LP, He JR, Gao Y, Pieper JO, DeTolla LJ. Subdiaphragmatic vagotomy inhibits intra-abdominal interleukin-1 beta stimulation of adrenocorticotropin secretion. *Brain Res*. 1996;728(2):247-54.
73. Hosoi T, Okuma Y, Nomura Y. Electrical stimulation of afferent vagus nerve induces IL-1 β expression in the brain and activates HPA axis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2000;279(1):R141-R7.
74. Masi EB, Valdes-Ferrer SI, Steinberg BE. The vagus neurometabolic interface and clinical disease. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(6):1101-11.
75. Bonaz BL, Bernstein CN. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2013;144(1):36-49.
76. Benarroch EE. The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective. *Mayo Clin Proc*. 1993;68(10):988-1001.
77. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(6):418-28.
78. Oke SL, Tracey KJ. From CNI-1493 to the immunological homunculus: physiology of the inflammatory reflex. *Journal of leukocyte biology*. 2008;83(3):512-7.
79. Rosas-Ballina M, Ochani M, Parrish WR, Ochani K, Harris YT, Huston JM, et al. Splenic nerve is required for cholinergic antiinflammatory pathway control of TNF in endotoxemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(31):11008-13.
80. Kohm A, Sanders V. Suppression of antigen-specific Th2 cell-dependent IgM and IgG1 production following norepinephrine depletion in vivo. *The Journal of Immunology*. 1999;162(9):5299-308.
81. Kruszewska B, Felten SY, Moynihan JA. Alterations in cytokine and antibody production following chemical sympathectomy in two strains of mice. *The journal of immunology*. 1995;155(10):4613-20.
82. Torres-Rosas R, Yehia G, Peña G, Mishra P, del Rocio Thompson-Bonilla M, Moreno-Eutimio MA, et al. Dopamine mediates vagal modulation of the immune system by electroacupuncture. *Nature medicine*. 2014;20(3):291.

83. Yim Y-K, Lee H, Hong K-E, Kim Y-I, Lee B-R, Son C-G, et al. Electro-acupuncture at acupoint ST36 reduces inflammation and regulates immune activity in collagen-induced arthritic mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2007;4(1):51-7.
84. Matteoli G, Gomez-Pinilla PJ, Nemethova A, Di Giovangiulio M, Cailotto C, van Bree SH, et al. A distinct vagal anti-inflammatory pathway modulates intestinal muscularis resident macrophages independent of the spleen. *Gut*. 2014;63(6):938-48.
85. Muller PA, Koscsó B, Rajani GM, Stevanovic K, Berres M-L, Hashimoto D, et al. Crosstalk between muscularis macrophages and enteric neurons regulates gastrointestinal motility. *Cell*. 2014;158(2):300-13.
86. Gabanyi I, Muller PA, Feighery L, Oliveira TY, Costa-Pinto FA, Mucida D. Neuro-immune interactions drive tissue programming in intestinal macrophages. *Cell*. 2016;164(3):378-91.
87. Chiu IM, Heesters BA, Ghasemlou N, Von Hehn CA, Zhao F, Tran J, et al. Bacteria activate sensory neurons that modulate pain and inflammation. *Nature*. 2013;501(7465):52-7.
88. Talbot S, Abdunour R-EE, Burkett PR, Lee S, Cronin SJ, Pascal MA, et al. Silencing nociceptor neurons reduces allergic airway inflammation. *Neuron*. 2015;87(2):341-54.
89. Sloan RP, McCreath H, Tracey KJ, Sidney S, Liu K, Seeman T. RR interval variability is inversely related to inflammatory markers: the CARDIA study. *Molecular Medicine*. 2007;13(3-4):178-84.
90. Koopman FA, Chavan SS, Miljko S, Grazio S, Sokolovic S, Schuurman PR, et al. Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in rheumatoid arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(29):8284-9.
91. Bonaz B, Sinniger V, Hoffmann D, Clarencon D, Mathieu N, Dantzer C, et al. Chronic vagus nerve stimulation in Crohn's disease: a 6-month follow-up pilot study. *Neurogastroenterology & Motility*. 2016;28(6):948-53.
92. Zachs DP, Offutt SJ, Graham RS, Kim Y, Mueller J, Auger JL, et al. Noninvasive ultrasound stimulation of the spleen to treat inflammatory arthritis. *Nature Communications*. 2019;10(1):951.
93. Cotero V, Fan Y, Tsaava T, Kressel AM, Hancu I, Fitzgerald P, et al. Noninvasive sub-organ ultrasound stimulation for targeted neuromodulation. *Nature Communications*. 2019;10(1):952.
94. Goebel MU, Trebst AE, Steiner J, Xie YF, Exton MS, Frede S, et al. Behavioral conditioning of immunosuppression is possible in humans. *The FASEB journal*. 2002;16(14):1869-73.
95. Longo D, Duffey P, Kopp W, Heyes M, Alvord W, Sharfman W, et al. Conditioned immune response to interferon- γ in humans. *Clinical Immunology*. 1999;90(2):173-81.
96. Pongratz G, Straub RH. The sympathetic nervous response in inflammation. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(6):504.
97. Scheiermann C, Kunisaki Y, Lucas D, Chow A, Jang JE, Zhang D, et al. Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. *Immunity*. 2012;37(2):290-301.
98. Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Eberhardt B, Platzer C, Schoning B, et al. Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med*. 1998;4(7):808-13.
99. van der Poll T, Coyle SM, Barbosa K, Braxton CC, Lowry SF. Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during human endotoxemia. *J Clin Invest*. 1996;97(3):713-9.
100. Powley TL, Spaulding RA, Haglof SA. Vagal afferent innervation of the proximal gastrointestinal tract mucosa: chemoreceptor and mechanoreceptor architecture. *Journal of Comparative Neurology*. 2011;519(4):644-60.
101. Gaykema RP, Goehler LE, Lyte M. Brain response to cecal infection with *Campylobacter jejuni*: analysis with Fos immunohistochemistry. *Brain, behavior, and immunity*. 2004;18(3):238-45.
102. Bercik P, Park A, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterology & Motility*. 2011;23(12):1132-9.
103. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(38):16050-5.

104. Lal S, Kirkup AJ, Brunnsden AM, Thompson DG, Grundy D. Vagal afferent responses to fatty acids of different chain length in the rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2001;281(4):G907-G15.
105. Raybould HE. Gut chemosensing: interactions between gut endocrine cells and visceral afferents. *Autonomic Neuroscience*. 2010;153(1-2):41-6.
106. Goehler LE, Gaykema RP, Hansen MK, Anderson K, Maier SF, Watkins LR. Vagal immune-to-brain communication: a visceral chemosensory pathway. *Autonomic Neuroscience*. 2000;85(1-3):49-59.
107. Sarkar A, Lehto SM, Harty S, Dinan TG, Cryan JF, Burnet PW. Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends in neurosciences*. 2016;39(11):763-81.
108. Browning KN. Role of central vagal 5-HT₃ receptors in gastrointestinal physiology and pathophysiology. *Frontiers in neuroscience*. 2015;9:413-.
109. Manta S, El Mansari M, Debonnel G, Blier P. Electrophysiological and neurochemical effects of long-term vagus nerve stimulation on the rat monoaminergic systems. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2013;16(2):459-70.
110. Tache Y, Larauche M, Yuan P-Q, Million M. Brain and gut CRF signaling: biological actions and role in the gastrointestinal tract. *Current molecular pharmacology*. 2018;11(1):51-71.
111. Theoharides TC, Cochrane DE. Critical role of mast cells in inflammatory diseases and the effect of acute stress. *Journal of neuroimmunology*. 2004;146(1-2):1-12.
112. Moussaoui N, Jacobs JP, Larauche M, Biraud M, Million M, Mayer E, et al. Chronic early-life stress in rat pups alters basal corticosterone, intestinal permeability, and fecal microbiota at weaning: influence of sex. *Journal of neurogastroenterology and motility*. 2017;23(1):135.
113. Salminen S, Ouwehand A, Benno Y, Lee Y. Probiotics: how should they be defined? *Trends in food science & technology*. 1999;10(3):107-10.
114. McNulty NP, Yatsunencko T, Hsiao A, Faith JJ, Muegge BD, Goodman AL, et al. The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. *Science translational medicine*. 2011;3(106):106ra-ra.
115. Sanchez B, De Los REYES-GAVILÁN CG, Margolles A, Gueimonde M. Probiotic fermented milks: present and future. *International Journal of Dairy Technology*. 2009;62(4):472-83.
116. Sanchez B, Delgado S, Blanco-Miguez A, Lourenco A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(1).
117. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2017;14(8):491-502.
118. Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol*. 2015;52(12):7577-87.
119. Cremer H, Lang K. Die Bedeutung der Topinambur für die Ernährung des Menschen. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 1950;91(6):405-12.
120. Kumar Singh A, Cabral C, Kumar R, Ganguly R, Kumar Rana H, Gupta A, et al. Beneficial Effects of Dietary Polyphenols on Gut Microbiota and Strategies to Improve Delivery Efficiency. *Nutrients*. 2019;11(9).
121. Darroudi S, Fereydouni N, Tayefi M, Ahmadnezhad M, Zamani P, Tayefi B, et al. Oxidative stress and inflammation, two features associated with a high percentage body fat, and that may lead to diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Biofactors*. 2019;45(1):35-42.
122. Cipak Gasparovic A, Zarkovic N, Zarkovic K, Semen K, Kaminskyy D, Yelisyyeva O, et al. Biomarkers of oxidative and nitro-oxidative stress: conventional and novel approaches. *Br J Pharmacol*. 2017;174(12):1771-83.
123. Apaijai N, Pintana H, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Effects of vildagliptin versus sitagliptin, on cardiac function, heart rate variability and mitochondrial function in obese insulin-resistant rats. *British journal of pharmacology*. 2013;169(5):1048-57.

124. Semen K, Yelisyeyeva O, Jarocka-Karpowicz I, Kaminsky D, Solovey L, Skrzydlewska E, et al. Sildenafil reduces signs of oxidative stress in pulmonary arterial hypertension: Evaluation by fatty acid composition, level of hydroxynonenal and heart rate variability. *Redox biology*. 2016;7:48-57.
125. Supakul L, Pintana H, Apaijai N, Chattipakorn S, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn N. Protective effects of garlic extract on cardiac function, heart rate variability, and cardiac mitochondria in obese insulin-resistant rats. *European journal of nutrition*. 2014;53(3):919-28.
126. Yelisyeyeva O, Semen K, Zarkovic N, Kaminsky D, Lutsyk O, Rybalchenko V. Activation of aerobic metabolism by Amaranth oil improves heart rate variability both in athletes and patients with type 2 diabetes mellitus. *Archives of physiology and biochemistry*. 2012;118(2):47-57.
127. Semen KO, Yelisyeyeva OP, Kaminsky DV, Cherkas AP, Zarkovic K, Lutsyk O, et al. Interval hypoxic training in complex treatment of Helicobacter pylori-associated peptic ulcer disease. *Acta Biochimica Polonica*. 2010;57(2).
128. Tsutsumi T, Ide T, Yamato M, Kudou W, Andou M, Hirooka Y, et al. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2008;77(4):713-21.
129. Kong SS, Liu JJ, Yu XJ, Lu Y, Zang WJ. Protection against ischemia-induced oxidative stress conferred by vagal stimulation in the rat heart: involvement of the AMPK-PKC pathway. *Int J Mol Sci*. 2012;13(11):14311-25.
130. Wang Z, Zhou X, Zhou L, Yu L, Jiang H. Noninvasive vagus nerve stimulation: A novel feasible approach for cardioprotection during ischemia-reperfusion injury. *Int J Cardiol*. 2015;191:13-4.
131. Jiang Y, Li L, Tan X, Liu B, Zhang Y, Li C. miR-210 mediates vagus nerve stimulation-induced antioxidant stress and anti-apoptosis reactions following cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *J Neurochem*. 2015;134(1):173-81.
132. Zhang Q, Lai Y, Deng J, Wang M, Wang Z, Wang M, et al. Vagus Nerve Stimulation Attenuates Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury via the Nrf2/HO-1 Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:9549506.
133. Bezerra OC, Franca CM, Rocha JA, Neves GA, Souza PRM, Teixeira Gomes M, et al. Cholinergic Stimulation Improves Oxidative Stress and Inflammation in Experimental Myocardial Infarction. *Sci Rep*. 2017;7(1):13687.
134. Øvrevik J, Refsnes M, Låg M, Brinchmann BC, Schwarze PE, Holme JA. Triggering mechanisms and inflammatory effects of combustion exhaust particles with implication for carcinogenesis. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2017;121:55-62.
135. Bernard C. *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux végétaux et aux animaux*. Paris, Baillière. 1878.
136. Cannon WB. *Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage: An account of recent researches into the function of emotional excitement*: D. Appleton; 1916.
137. Selye H. A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature*. 1936;138(3479):32-.
138. Selye H. The Evolution of the Stress Concept: The originator of the concept traces its development from the discovery in 1936 of the alarm reaction to modern therapeutic applications of syntoxic and catatoxic hormones. *American scientist*. 1973;61(6):692-9.
139. Moser M, Frühwirth M, Penter R, Winker R. Why life oscillates—from a topographical towards a functional chronobiology. *Cancer causes & control*. 2006;17(4):591-9.
140. McEwen BS, Wingfield JC. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and behavior*. 2003;43(1):2-15.
141. McEwen BS. Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York academy of sciences*. 1998;840(1):33-44.
142. Wittchen HU, Hoyer J. *Klinische Psychologie & Psychotherapie (Lehrbuch mit Online-Materialien)*: Springer Berlin Heidelberg; 2011.
143. Silverman MN, Deuster PA. Biological mechanisms underlying the role of physical fitness in health and resilience. *Interface focus*. 2014;4(5):20140040.
144. Scheier MF, Carver CS. Optimism, coping, and health: assessment and implications of generalized outcome expectancies. *Health psychology*. 1985;4(3):219.

145. Bandura A. Self-efficacy mechanism in human agency. *American psychologist*. 1982;37(2):122.
146. Antonovsky A. Health, stress, and coping. 1979.
147. Viswesvaran C, Sanchez JI, Fisher J. The role of social support in the process of work stress: A meta-analysis. *Journal of vocational behavior*. 1999;54(2):314-34.
148. Inagaki TK, Eisenberger NI. Giving support to others reduces sympathetic nervous system-related responses to stress. *Psychophysiology*. 2016;53(4):427-35.
149. Lowrance SA, Ionadi A, McKay E, Douglas X, Johnson JD. Sympathetic nervous system contributes to enhanced corticosterone levels following chronic stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;68:163-70.
150. Pulpulos MM, Vanderhasselt MA, De Raedt R. Association between changes in heart rate variability during the anticipation of a stressful situation and the stress-induced cortisol response. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;94:63-71.
151. Roos LE, Knight EL, Beauchamp KG, Berkman ET, Faraday K, Hyslop K, et al. Acute stress impairs inhibitory control based on individual differences in parasympathetic nervous system activity. *Biol Psychol*. 2017;125:58-63.
152. Dong SY, Lee M, Park H, Youn I. Stress Resilience Measurement With Heart-Rate Variability During Mental And Physical Stress. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2018;2018:5290-3.
153. Agorastos A, Heinig A, Stiedl O, Hager T, Sommer A, Muller JC, et al. Vagal effects of endocrine HPA axis challenges on resting autonomic activity assessed by heart rate variability measures in healthy humans. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;102:196-203.
154. de Looft PC, Cornet LJM, Embregts P, Nijman HLI, Didden HCM. Associations of sympathetic and parasympathetic activity in job stress and burnout: A systematic review. *PLoS One*. 2018;13(10):e0205741.
155. Jarvelin-Pasanen S, Sinikallio S, Tarvainen MP. Heart rate variability and occupational stress-systematic review. *Ind Health*. 2018;56(6):500-11.
156. Kleitman N. Sleep and wakefulness: University of Chicago Press; 1963.
157. Siwicki KK, Hardin PE, Price JL. Reflections on contributing to “big discoveries” about the fly clock: Our fortunate paths as post-docs with 2017 Nobel laureates Jeff Hall, Michael Rosbash, and Mike Young. *Neurobiology of sleep and circadian rhythms*. 2018;5:58-67.
158. Zeitzer JM, Daniels JE, Duffy JF, Klerman EB, Shanahan TL, Dijk DJ, et al. Do plasma melatonin concentrations decline with age? *Am J Med*. 1999;107(5):432-6.
159. Klerman EB, Dijk D, Kronauer RE, Czeisler CA. Simulations of light effects on the human circadian pacemaker: implications for assessment of intrinsic period. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1996;270(1):R271-R82.
160. Boivin DB, Duffy JF, Kronauer RE, Czeisler CA. Dose-response relationships for resetting of human circadian clock by light. *Nature*. 1996;379(6565):540-2.
161. Cajochen C, Krauchi K, Wirz-Justice A. Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *J Neuroendocrinol*. 2003;15(4):432-7.
162. Ho Mien I, Chua EC-P, Lau P, Tan L-C, Lee IT-G, Yeo S-C, et al. Effects of exposure to intermittent versus continuous red light on human circadian rhythms, melatonin suppression, and pupillary constriction. *PLoS one*. 2014;9(5).
163. Phillips AJK, Vidafar P, Burns AC, McGlashan EM, Anderson C, Rajaratnam SMW, et al. High sensitivity and interindividual variability in the response of the human circadian system to evening light. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(24):12019-24.
164. Moreno CRdC, Vasconcelos S, Marqueze EC, Lowden A, Middleton B, Fischer FM, et al. Sleep patterns in Amazon rubber tappers with and without electric light at home. *Scientific reports*. 2015;5:14074.
165. Rödmark S, Wikner J, Adner N, Andersson DE, Wetterberg L. Inhibition of melatonin secretion by ethanol in man. *Metabolism*. 1993;42(8):1047-51.
166. Danel T, Touitou Y. [Alcohol, chronobiology and sleep]. *Pathol Biol (Paris)*. 2001;49(9):726-31.

167. Babey A, Palmour R, Young S. Caffeine and propranolol block the increase in rat pineal melatonin production produced by stimulation of adenosine receptors. *Neuroscience letters*. 1994;176(1):93-6.
168. Shilo L, Sabbah H, Hadari R, Kovatz S, Weinberg U, Dolev S, et al. The effects of coffee consumption on sleep and melatonin secretion. *Sleep medicine*. 2002;3(3):271-3.
169. Clark I, Landolt HP. Coffee, caffeine, and sleep: A systematic review of epidemiological studies and randomized controlled trials. *Sleep medicine reviews*. 2017;31:70-8.
170. Park J, Han JW, Lee JR, Byun S, Suh SW, Kim T, et al. Lifetime coffee consumption, pineal gland volume, and sleep quality in late life. *Sleep*. 2018;41(10).
171. Stoschitzky K, Sakotnik A, Lercher P, Zweiker R, Maier R, Liebmann P, et al. Influence of beta-blockers on melatonin release. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999;55(2):111-5.
172. Scheer FA, Morris CJ, Garcia JI, Smales C, Kelly EE, Marks J, et al. Repeated melatonin supplementation improves sleep in hypertensive patients treated with beta-blockers: a randomized controlled trial. *Sleep*. 2012;35(10):1395-402.
173. Maronde E, Middendorff R, Mayer B, Olcese J. The effect of NO-donors in bovine and rat pineal cells: stimulation of cGMP and cGMP-independent inhibition of melatonin synthesis. *Journal of neuroendocrinology*. 1995;7(3):207-14.
174. Waldhauser F, Weizenbacher G, Tatzer E, Gisinger B, Waldhauser M, Schemper M, et al. Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1988;66(3):648-52.
175. Skene D, Vivien-Roels B, Sparks D, Hunsaker J, Pevet P, Ravid D, et al. Daily variation in the concentration of melatonin and 5-methoxytryptophol in the human pineal gland: effect of age and Alzheimer's disease. *Brain research*. 1990;528(1):170-4.
176. de Goede P, Wefers J, Brombacher EC, Schrauwen P, Kalsbeek A. Circadian rhythms in mitochondrial respiration. *J Mol Endocrinol*. 2018;60(3):R115-r30.
177. Laothamatas I, Gao P, Wickramaratne A, Quintanilla CG, Dino A, Khan CA, et al. Spatiotemporal regulation of NADP(H) phosphatase Nocturnin and its role in oxidative stress response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(2):993-9.
178. Kempf A, Song SM, Talbot CB, Miesenböck G. A potassium channel β -subunit couples mitochondrial electron transport to sleep. *Nature*. 2019;568(7751):230-4.
179. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*. 2004;36(1):1-9.
180. Tan D-X, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *Journal of Pineal Research*. 2007;42(1):28-42.
181. Hill VM, O'Connor RM, Sissoko GB, Irobunda IS, Leong S, Canman JC, et al. A bidirectional relationship between sleep and oxidative stress in *Drosophila*. *PLoS Biol*. 2018;16(7):e2005206.
182. Pavanello S, Stendardo M, Mastrangelo G, Casillo V, Nardini M, Mutti A, et al. Higher Number of Night Shifts Associates with Good Perception of Work Capacity and Optimal Lung Function but Correlates with Increased Oxidative Damage and Telomere Attrition. *Biomed Res Int*. 2019;2019:8327629.
183. Davis S, Mirick DK, Stevens RG. Night shift work, light at night, and risk of breast cancer. *Journal of the national cancer institute*. 2001;93(20):1557-62.
184. Papantoniou K, Castaño-Vinyals G, Espinosa A, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Burgos J, et al. Night shift work, chronotype and prostate cancer risk in the MCC-S pain case-control study. *International journal of cancer*. 2015;137(5):1147-57.
185. Viswanathan AN, Hankinson SE, Schernhammer ES. Night shift work and the risk of endometrial cancer. *Cancer research*. 2007;67(21):10618-22.
186. Schernhammer ES, Laden F, Speizer FE, Willett WC, Hunter DJ, Kawachi I, et al. Night-shift work and risk of colorectal cancer in the nurses' health study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003;95(11):825-8.

187. Solanki N, Atrooz F, Asghar S, Salim S. Tempol protects sleep-deprivation induced behavioral deficits in aggressive male Long-Evans rats. *Neurosci Lett*. 2016;612:245-50.
188. Lu C, Wang Y, Lv J, Jiang N, Fan B, Qu L, et al. Ginsenoside Rh2 reverses sleep deprivation-induced cognitive deficit in mice. *Behav Brain Res*. 2018;349:109-15.
189. Verma AK, Singh S, Rizvi SI. Redox homeostasis in a rodent model of circadian disruption: Effect of melatonin supplementation. *Gen Comp Endocrinol*. 2019;280:97-103.
190. Kobayashi T, Madokoro S, Wada Y, Misaki K, Nakagawa H. Ethanol effect on sleep electroencephalogram by the correlation dimension. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 2001;55(3):233-4.
191. Yasuma F, Hayano J-i. Respiratory sinus arrhythmia: why does the heartbeat synchronize with respiratory rhythm? *Chest*. 2004;125(2):683-90.
192. Yasuma F, Nomura H, Ogawa S, Miyaguchi K, Narita G, Hama Y, et al. Hemodynamic study of negative pressure ventilation using diaphragm pacing. *Kokyu to junkan Respiration & circulation*. 1989;37(9):977-81.
193. Hildebrandt G, Moser M, Lehofer M. *Chronobiologie und Chronomedizin: biologische Rhythmen; medizinische Konsequenzen*: Hippokrates-Verlag; 1998.
194. Julien C. The enigma of Mayer waves: Facts and models. *Cardiovascular Research*. 2006;70(1):12-21.
195. Pomeranz B, Macaulay RJ, Caudill MA, Kutz I, Adam D, Gordon D, et al. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1985;248(1):H151-H3.
196. Aladin AI, Whelton SP, Al-Mallah MH, Blaha MJ, Keteyian SJ, Juraschek SP, et al. Relation of Resting Heart Rate to Risk for All-Cause Mortality by Gender After considering Exercise Capacity (the Henry Ford Exercise Testing Project). *The American Journal of Cardiology*. 2014;114(11):1701-6.
197. Weiß C. *Basiswissen Medizinische Statistik, 5., überarb. Auflage*, Heidelberg und Berlin. 2010.
198. Camm AJ, Malik M, Bigger JT, Breithardt G, Cerutti S, Cohen RJ, et al. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. 1996.
199. Moser M, Lehofer M, Sedminek A, Lux M, Zapotoczky H-G, Kenner T, et al. Heart rate variability as a prognostic tool in cardiology. A contribution to the problem from a theoretical point of view. *Circulation*. 1994;90(2):1078-82.
200. Malik M, Camm AJ. Components of heart rate variability--what they really mean and what we really measure. *The American journal of cardiology*. 1993;72(11):821-2.
201. Topçu Ç, Frühwirth M, Moser M, Rosenblum M, Pikovskiy A. Disentangling respiratory sinus arrhythmia in heart rate variability records. *Physiological measurement*. 2018;39(5):054002.
202. Kralemann B, Frühwirth M, Pikovskiy A, Rosenblum M, Kenner T, Schaefer J, et al. In vivo cardiac phase response curve elucidates human respiratory heart rate variability. *Nature communications*. 2013;4(1):1-9.
203. Moser M, Lehofer M, Hildebrandt G, Voica M, Egner S, Kenner T. Phase-and frequency coordination of cardiac and respiratory function. *Biological Rhythm Research*. 1995;26(1):100-11.
204. Raschke F. *Die Kopplung zwischen Herzschlag und Atmung beim Menschen*1981.
205. Hayano J, Sakakibara Y, Yamada M, Ohte N, Fujinami T, Yokoyama K, et al. Decreased magnitude of heart rate spectral components in coronary artery disease. Its relation to angiographic severity. *Circulation*. 1990;81(4):1217-24.
206. Lishner M, Akselrod S, Avi VM, Oz O, Divon M, Ravid M. Spectral analysis of heart rate fluctuations. A non-invasive, sensitive method for the early diagnosis of autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *Journal of the autonomic nervous system*. 1987;19(2):119-25.
207. Gaus W, Muche R. *Medizinische Statistik: Angewandte Biometrie für Ärzte und Gesundheitsberufe*: Schattauer Verlag; 2017. Kapitel 17, 8 p.
208. Dinan TG, Cryan JF. Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37(9):1369-78.
209. Neufeld K-AM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Effects of intestinal microbiota on anxiety-like behavior. *Communicative & integrative biology*. 2011;4(4):492-4.

210. Liu X, Teng T, Li X, Fan L, Xiang Y, Jiang Y, et al. Impact of Inosine on Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depressive and Anxiety-Like Behaviors With the Alteration of Gut Microbiota. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021;11.
211. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *nature*. 2006;444(7122):1027-31.
212. Zhou Y, Zhi F. Lower level of bacteroides in the gut microbiota is associated with inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *BioMed research international*. 2016;2016.
213. Kasprzak-Drozd K, Oniszczuk T, Soja J, Gancarz M, Wojtunik-Kulesza K, Markut-Miotła E, et al. The Efficacy of Black Chokeberry Fruits against Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12).
214. Akita M, Kuwahara M, Itoh F, Nakano Y, Osakabe N, Kurosawa T, et al. Effects of cacao liquor polyphenols on cardiovascular and autonomic nervous functions in hypercholesterolaemic rabbits. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008;103(6):581-7.
215. Dillenburg DR, Mostarda C, Moraes-Silva IC, Ferreira D, Bós Dda S, Duarte AA, et al. Resveratrol and grape juice differentially ameliorate cardiovascular autonomic modulation in L-NAME-treated rats. *Auton Neurosci*. 2013;179(1-2):9-13.
216. von Bonin D, Grote V, Buri C, Cysarz D, Heusser P, Moser M, et al. Adaption of cardio-respiratory balance during day-rest compared to deep sleep—An indicator for quality of life? *Psychiatry Research*. 2014;219(3):638-44.
217. Brandenberger G, Buchheit M, Ehrhart J, Simon C, Piquard F. Is slow wave sleep an appropriate recording condition for heart rate variability analysis? *Autonomic Neuroscience*. 2005;121(1-2):81-6.
218. Jeon T-I, Seo Y-K, Osborne TF. Gut bitter taste receptor signalling induces ABCB1 through a mechanism involving CCK. *Biochemical Journal*. 2011;438(1):33-7.
219. McNeil NI. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr*. 1984;39(2):338-42.
220. Kentish S, O'donnell T, Frisby C, Li H, Wittert G, Page A. Altered gastric vagal mechanosensitivity in diet-induced obesity persists on return to normal chow and is accompanied by increased food intake. *International journal of obesity*. 2014;38(5):636-42.
221. Page AJ. Vagal afferent dysfunction in obesity: cause or effect. *J Physiol*. 2016;594(1):5-6.
222. Pavlov VA, Tracey KJ. The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(12):743-54.
223. Möller H-J, Laux G, Deister A. *Duale Reihe Psychiatrie und Psychotherapie*: Georg Thieme Verlag; 2009.
224. Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*. 2013;246:199-229.
225. Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2005;29(2):201-17.
226. Oglodek EA. Changes in the concentrations of inflammatory and oxidative status biomediators (MIP-1 alpha, PMN elastase, MDA, and IL-12) in depressed patients with and without posttraumatic stress disorder. *Pharmacol Rep*. 2018;70(1):110-8.
227. Diniz BS, Mendes-Silva AP, Silva LB, Bertola L, Vieira MC, Ferreira JD, et al. Oxidative stress markers imbalance in late-life depression. *J Psychiatr Res*. 2018;102:29-33.
228. Bampi SR, Casaril AM, Sabedra Sousa FS, Pesarico AP, Vieira B, Lenardao EJ, et al. Repeated administration of a selenium-containing indolyl compound attenuates behavioural alterations by streptozotocin through modulation of oxidative stress in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2019;183:46-55.
229. Khan A, Shal B, Naveed M, Shah FA, Atiq A, Khan NU, et al. Matrine ameliorates anxiety and depression-like behaviour by targeting hyperammonemia-induced neuroinflammation and oxidative stress in CCl4 model of liver injury. *Neurotoxicology*. 2019;72:38-50.
230. Moore A, Beidler J, Hong MY. Resveratrol and Depression in Animal Models: A Systematic Review of the Biological Mechanisms. *Molecules*. 2018;23(9).

231. Zheng P, Zeng B, Zhou C, Liu M, Fang Z, Xu X, et al. Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Molecular psychiatry*. 2016;21(6):786-96.
232. Carpenter LL, Moreno FA, Kling MA, Anderson GM, Regenold WT, Labiner DM, et al. Effect of vagus nerve stimulation on cerebrospinal fluid monoamine metabolites, norepinephrine, and gamma-aminobutyric acid concentrations in depressed patients. *Biological Psychiatry*. 2004;56(6):418-26.
233. Dorr AE, Debonnel G. Effect of vagus nerve stimulation on serotonergic and noradrenergic transmission. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2006;318(2):890-8.
234. Roosevelt RW, Smith DC, Clough RW, Jensen RA, Browning RA. Increased extracellular concentrations of norepinephrine in cortex and hippocampus following vagus nerve stimulation in the rat. *Brain research*. 2006;1119(1):124-32.
235. Manta S, Dong J, Debonnel G, Blier P. Enhancement of the function of rat serotonin and norepinephrine neurons by sustained vagus nerve stimulation. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*. 2009;34(4):272.
236. Sackeim HA, Brannan SK, Rush AJ, George MS, Marangell LB, Allen J. Durability of antidepressant response to vagus nerve stimulation (VNS™). *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2007;10(6):817-26.
237. Senova S, Rabu C, Beaumont S, Michel V, Palfi S, Mallet L, et al. [Vagus nerve stimulation and depression]. *Presse Med*. 2019;48(12):1507-19.
238. Daban C, Martinez-Aran A, Cruz N, Vieta E. Safety and efficacy of Vagus Nerve Stimulation in treatment-resistant depression. A systematic review. *Journal of affective disorders*. 2008;110(1-2):1-15.
239. Hein E, Nowak M, Kiess O, Biermann T, Bayerlein K, Kornhuber J, et al. Auricular transcutaneous electrical nerve stimulation in depressed patients: a randomized controlled pilot study. *Journal of Neural Transmission*. 2013;120(5):821-7.
240. Rong P, Liu J, Wang L, Liu R, Fang J, Zhao J, et al. Effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on major depressive disorder: A nonrandomized controlled pilot study. *J Affect Disord*. 2016;195:172-9.
241. Sgoifo A, Carnevali L, Alfonso Mde L, Amore M. Autonomic dysfunction and heart rate variability in depression. *Stress*. 2015;18(3):343-52.
242. Hu MX, Penninx B, de Geus EJC, Lamers F, Kuan DC, Wright AGC, et al. Associations of immunometabolic risk factors with symptoms of depression and anxiety: The role of cardiac vagal activity. *Brain Behav Immun*. 2018;73:493-503.
243. Tonhajzerova I, Visnovcova Z, Mestanikova A, Jurko A, Mestanik M. Cardiac Vagal Control and Depressive Symptoms in Response to Negative Emotional Stress. *Adv Exp Med Biol*. 2016;934:23-30.
244. Mestanikova A, Mestanik M, Ondrejka I, Hrtanek I, Cesnekova D, Jurko A, Jr., et al. Complex cardiac vagal regulation to mental and physiological stress in adolescent major depression. *J Affect Disord*. 2019;249:234-41.
245. Jarczok MN, Kleber ME, Koenig J, Loerbroks A, Herr RM, Hoffmann K, et al. Investigating the associations of self-rated health: heart rate variability is more strongly associated than inflammatory and other frequently used biomarkers in a cross sectional occupational sample. *PloS one*. 2015;10(2).

Anhang

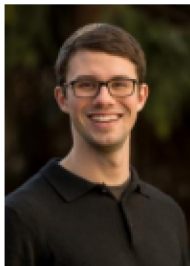
Lebenslauf



Lebenslauf

Romeo Riedler

ANGABEN ZUR PERSON



Romeo Riedler

📍 E. Puschmannstraße 10, 4400 Steyr

☎ +43650 7668880

✉ romeo.m.s.r@gmail.com

📅 Geburtsdatum: 22.03.1995

BERUFSERFAHRUNG

- | | |
|------------------|---|
| Feb 21 – Nov 21 | „30 Jahre Anamnesegruppe - Gelebte Biopsychosoziale Medizin“ Tagungs-Organisation
Im Namen der Anamnesegruppe Graz, der MUG, der ÖGMP und des Institutes für Medizinische Psychologie und Psychotherapie Graz <ul style="list-style-type: none">• Koordination der Jubiläumstagung einer Lehrveranstaltung zur Entwicklung einer Gesprächs- und Begegnungskultur im Klinischen Alltag (Beschreibung siehe Tutor-Job weiter unten). Die Tagung war aufgebaut in den Phasen: Reflexion der Vergangenheit, Darstellung des daraus Entstandenen in der Gegenwart und Schließlich ein Blick in die Zukunft mit Visionen.• Die Organisation (und Reorganisation) einer Tagung, unter zunehmenden SARS-CoV-2 Fällen, war ein Resilienz-Test und Erfolg. |
| Mär. 19 - Jun.19 | Mitarbeiter bei einer wissenschaftlichen Studie
Institut für Pathophysiologie und Immunologie; Otto Loewi Institut Lehrstuhl Physiologie, Graz <ul style="list-style-type: none">• ESAN II Studie, Verantwortung für einen Teilbereich mit HRV- Labor (Herzratenvariabilitäts-Messungen), Teil meiner Diplomarbeit |
| Jan 18 - Okt. 18 | "Late Summer School for Ultrasound" Tagungs-Organisation
Sono4You Graz <ul style="list-style-type: none">• Koordinator im Organisationsteam des größten Studierendenkurses für Sonographie in Europa. Etwa 300 Studenten absolvierten ein 4 Tage dauerndes Intensivtraining. Die Studierenden waren z.T. via Livestream aus 8 Städten Europas zugeschaltet. (Alle Vorträge sind auf Youtube zu finden) |
| Seit 2018 | Sonographie Basiskurs Trainer <ul style="list-style-type: none">• Notfallseminar- Konress in Graz 2018• Pokus Berlin 2019• „Summer Schools“ Sono4you Graz: 2018, 2019, 2020, 2021 (Studierende und ÄrztInnen) |
| 2017 - 2021 | Tutor bei Sono4You Graz
Initiative zur Vermittlung der Untersuchung mittels Sonographie <ul style="list-style-type: none">• Engagement in Repräsentation, Organisation und Unterricht |
| 2016 - 2022 | Tutor des Faches: "Biopsychosoziale Medizin- Anamnesegruppe"
Institut für Medizinische Psychologie und Psychotherapie der Medizinischen Universität Graz <ul style="list-style-type: none">• Kommunikation im ärztlichen Setting wird durch Gesprächspraxis mit Patienten, Analyse, Feedback und Diskussionen trainiert. Auch ethische Fragestellungen treten auf. Ich war dabei 4 Jahre aktiv in die Organisation des Wahlfaches, Leitung der Abende, regelmäßige Supervision und Fortbildungen involviert. |

- Nov. 13 - Jul. 14 **Zivildienst in einem Flüchtlingswohnhaus für alleinstehende Minderjährige**
 Volkshilfe Steyr
- In dieser Zeit gewann ich Einblick in andere Kulturen und konnte erfahren, was die Menschen verbindet. Es war mir wichtig, zwischen Schulzeit und Studium Lebenserfahrung zu sammeln.
- Seit 2011 **Feuerartistik**
- Jonglage ist eine meiner großen Leidenschaften. In Feuershows bringe ich diese auch heute gelegentlich noch zur Geltung. Früher gab es intensivere Phasen. Im Sommer 2015 habe ich in einer Gruppe von Artisten 1 Monat von Straßenkunst gelebt und wir sind durch Italien getourt.
- 2011 - 2015 **Nachhilfelehrer für Mathematik und Englisch**
- Bereits als Schüler gab ich Nachhilfe und musste mich somit früh gut organisieren und Verantwortung übernehmen. Hier war viel Empathie gefragt.
- 2010 - 2015 **Ferialjobs: Brandschutz (Baustelle), Schotterwerk (2x), Post**
- Während meiner Schulzeit habe ich 4 Mal ein Monat das Arbeitsleben in einem körperlich und sozial fordernden Umfeld erlebt.

SCHUL- UND BERUFSBILDUNG

- Mär. 21 - Mär. 22 **Klinisch Praktisches Jahr mit Auslandspraktika**
 Österreich, Deutschland (2M Berlin), Kolumbien (2M Medellín)
- Okt. 15 - Mär. 21 **21 Wochen Famulaturen mit Auslandspraktika**
 Vielseitige Schwerpunkte in 3 Kulturkreisen
- Allgemein Chirurgie (2W), Innere Medizin (3W), Geburtshilfe in **Vietnam** (3W), Psychosomatik (3W), Psychiatrie in **Madrid** (4W), Innere Medizin und Sonographie in **Madrid** (2W), Psychiatrie Graz LKH (2W), Gastroenterologie Graz LKH (2W)
- Nov. 20 **Zertifizierung zum Chronomediziner**
 Bei Prof. Maximilian Moser (Schwerpunkt Physiologie und Chronobiologie)
- Theoretische Kenntnisse aus der Chronobiologie, sowie Anwendung und Interpretation von Herzratenvariabilitätsmessungen (HRV) wurden erlernt.
- Sep. 19 - Mai. 20 **Erasmus- Auslandsjahr**
 "Universidad Complutense de Madrid"
- Seit 2017 **Sonographische Ausbildungen und Kurse**
- **Sono4You interne Ausbildungen:** Abdomen-, Notfall-, Gefäßsonographie, Echokardiographie und MSK Ultraschall
 - Mai 2019: **ÖGUM Zertifikat** „Studentischer Tutor“ (Dr. Zollner)
 - **Fortbildungen** zu MSK, Hals, Lunge Notfälle, Leber, „Nachtdienst“ (Prof Dejako, Prim. Prof Gritzmann, Dr. Lesnik, Dr. Zechner, ...)
- Sept. 2016 **Tutorenschulung „Biopsychosoziale Medizin-Anamnesegruppe“**
 München

- Seit Okt.15 **Studium Humanmedizin**
Medizinische Universität Graz
- Okt. 14 - 2015 **Studium Molekularbiologie**
KFU Graz
- 2008 - 2014 **BORG Linz**
• Matura mit **ausgezeichnetem Erfolg** bestanden
- 06 - 08 **BG Steyr**
Sprachlicher Schwerpunkt
- 04 - 06 **MHS Steyr**
Musikalischer Schwerpunkt

PERSÖNLICHE FÄHIGKEITEN

Muttersprache Deutsch

Fremdsprachen	VERSTEHEN		SPRECHEN		SCHREIBEN
	Hören	Lesen	An Gesprächen teilnehmen	Zusammenhängendes Sprechen	
Englisch	C1	C1	C1	B2	B2
Spanisch	C1	C1	C1	B2	B2
Französisch	A2	A2	A1	A1	A1

Levels: A1/2: Elementar - B1/2: Selbstständig - C1/2 Kompetent

Kommunikative Fähigkeiten Hierbei möchte ich vor allem auf meine Tätigkeit als Anamnesetutor verweisen, aber auch die Bühnenerfahrung und die Organisation der "Late Summer School for Ultrasound" und der Tagung „30 Jahre Anamnesegruppe- Gelebte biopsychosoziale Medizin“ haben mich geprägt.

Organisations- und Führungstalent Meine gesammelten Erfahrungen konnte ich im Rahmen der Koordination der "Late Summer School for Ultrasound" auf ein neues Level bringen. Auch die Auslandsaufenthalte mit sprachlichen Barrieren und völliger Neustrukturierung, erweiterten meinen organisatorischen Horizont

Teamfähigkeit In den vielen Teams, in denen ich bereits tätig sein durfte, war ich stets bemüht meinen Anteil zu einer progressiven, kritischen und respektvollen Kultur beizutragen, vor allem, wenn ich die Leitung innehatte. Die bisher etwa 40 Teamsupervisionen an der Med. Psych. des LKH Graz haben diesen ständigen Lernprozess beschleunigt.

IT Fortgeschrittene SPSS Kenntnisse
ECDL

Fragebögen und Tätigkeitsprotokoll



Messtagebuch

für 25 Stunden Messungen

Allgemeine Information, Fragebögen und Tätigkeitsprotokoll

Messzeitpunkt (lt. Vorgabe des Betreuers): _____

Datum: _____

TeilnehmerInnen-Code: _____

Geburtsdatum (Tag/Monat/Jahr): _____

Start der Messung (exakte Uhrzeit): _____

(Der Start der Messung sollte im Idealfall um die Mittagszeit erfolgen!)

Checkliste:

(NICHT von dem/der Teilnehmer/Teilnehmerin auszufüllen)

FB	Elektronisch erfasst am:	Kürzel
Befinden		
Schlaf		
Tätigkeitsprotokoll		

Vom Betreuer auszufüllen: HRV – Messung

Dienstag/Mittwoch Mittwoch/Donnerstag

Donnerstag/Freitag Freitag/Samstag

Vom Betreuer auszufüllen:

Messgeräte-Nr.:

TeilnehmerInnen-Code:

Am Abend auszufüllen

Befindlichkeits-Skala

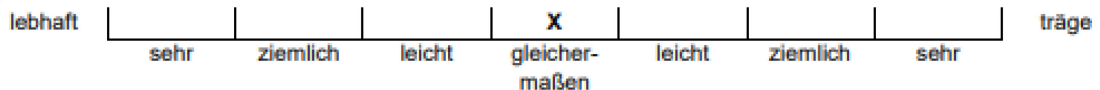
Allgemeine Angaben:

Datum:

Uhrzeit:

TeilnehmerInnencode:

Beispiel:



heißt: Ich fühle mich jetzt gleichermaßen lebhaft und träge.

Beurteilen Sie sich spontan, wie Sie sich jetzt fühlen!

Ich fühle mich jetzt

ruhig		nervös
müde		frisch
redselig		verschwiegen
unaufmerksam		aufmerksam
unausgeglichen		ausgeglichen
gestärkt		geschwächt
verschlossen		mitteilsam
wachsam		zerstreut
sicher		unsicher
kraftlos		tatkräftig
kontaktfreudig		scheu
unkonzentriert		konzentriert
ängstlich		nicht ängstlich
gesund		krank
zurückgezogen		gesellig
zielstrebig		ablenkbar

Während der HRV Messung - Protokoll über die Tagesaktivitäten

Auf diesen Blättern führen Sie bitte über die ganze 25 Stunden Messung genau Protokoll. Tragen Sie ein, was Sie wann gemacht haben.
Bitte achten Sie auf einen durchgehenden zeitlichen Ablauf und versuchen Sie Ihre Tätigkeit am besten immer gleich auf diesem Protokoll zu vermerken.

Datum:	TeilnehmerInnencode:
--------	----------------------

Nr.	Tätigkeit Kategorie-Code	Uhrzeit		Kategor. Code	Tätigkeit		Befinden
		Beginn	Ende			Liegen/Sitzen/Stehen	
Arbeit/Beruf							
1	körperliche Arbeit					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
2	geistige Arbeit					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
3	Komm./Besprechung					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
4	PC-Arbeit					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Alltag							
5	Essen/Trinken					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
6	Körperpflege					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
7	Hausarbeit					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
8	Einkauf					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
9	Kinder umsorgen					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Freizeit							
10	Sport					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
11	Computer					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
12	Fernsehen					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
13	Soziale Aktivität					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
14	Beschäftigung Haustiere					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
15	Künstlerische Aktivität					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
16	Musik hören					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
17	Lesen					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
18	Spaziergang					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Fortbewegung							
19	Auto/Motorrad lenken					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
20	Wege passiv- (Öffis/Beifahrer)					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
21	Wege körperl. Aktiv(Fahrrad,Gehen)					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Ruhephasen							
22	Schlaf (Bitte Marker setzen - Licht aus/ant!)					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
23	Ruhe/Pause					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
24	Sonstiges:					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

¹ Bitte kreuzen Sie an, ob Sie diese Aktivität hauptsächlich im Liegen , Sitzen oder Stehen verbracht.

Lizenzen für Abbildungen

Lizenz für *Abbildung 3* Gibbons „Handbook of clinical Neurology“-Elsevier:

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

May 18, 2021

This Agreement between Medical University of Graz – Romeo Riedler ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4892570376250
License date	Aug 19, 2020
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Elsevier Books
Licensed Content Title	Handbook of Clinical Neurology
Licensed Content Author	Christopher H. Gibbons
Licensed Content Date	Jan 1, 2019
Licensed Content Pages	12
Start Page	407
End Page	418
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	3
Format	electronic
Are you the author of this Elsevier chapter?	No
Will you be translating?	No
Title	Der Einfluss eines polyphenolreichen Saftes auf die autonome Regulation
Institution name	Medical University of Graz
Expected presentation date	Oct 2020
Portions	Fig. 27.1; Fig.27.2; Fig.27.3
Requestor Location	Medical University of Graz Neue Stiftingtalstrasse 6 Graz, 8010 Austria Attn: Medical University of Graz
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

INTRODUCTION

1. The publisher for this copyrighted material is Elsevier. By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the Billing and Payment terms and conditions established by Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC"), at the time that you opened your Rightslink account and that are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

GENERAL TERMS

2. Elsevier hereby grants you permission to reproduce the aforementioned material subject to the terms and conditions indicated.
3. Acknowledgement: If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in our publication with credit or acknowledgement to another source, permission must also be sought from that source. If such permission is not obtained then that material may not be included in your publication/copies. Suitable acknowledgement to the source must be made, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:

Lizenz für *Abbildung 9*, aus Kapitel: Wachen, Aufmerksamkeit und Schlafen;
Neurophysiologie von Schmidt; Springer Verlag:

SPRINGER NATURE LICENSE TERMS AND CONDITIONS

May 18, 2021

This Agreement between Medical University of Graz -- Romeo Riedler ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	4897050963582
License date	Aug 27, 2020
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Springer eBook
Licensed Content Title	Wachen, Aufmerksamkeit und Schlafen
Licensed Content Author	N. Birbaumer, R. F. Schmidt
Licensed Content Date	Jan 1, 2006
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	non-commercial (non-profit)
Format	print
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Will you be translating?	no
Circulation/distribution	1 - 29
Author of this Springer Nature content	no
Title	Der Einfluss eines polyphenolreichen Saftes auf die autonome Regulation
Institution name	Medical University of Graz
Expected presentation date	Oct 2020
Portions	page 394, (figure) Abb. 16.7.
Requestor Location	Medical University of Graz Neue Stiftingtalstrasse 6 Graz, 8010 Austria Attn: Medical University of Graz
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

Springer Nature Customer Service Centre GmbH Terms and Conditions

This agreement sets out the terms and conditions of the licence (the **Licence**) between you and **Springer Nature Customer Service Centre GmbH** (the **Licensor**). By clicking 'accept' and completing the transaction for the material (**Licensed Material**), you also confirm your acceptance of these terms and conditions.

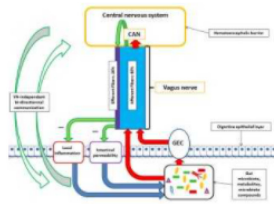
1. Grant of License

1. 1. The Licensor grants you a personal, non-exclusive, non-transferable, world-wide licence to reproduce the Licensed Material for the purpose specified in your order only. Licences are granted for the specific use requested in the order and for no other use, subject to the conditions below.

1. 2. The Licensor warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of the Licensed Material. However, you should ensure that the material you are requesting is original to the Licensor and does not carry the copyright of another entity (as credited in the published version).

Lizenz *Abbildung 5* aus "The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis"

Bonaz, B.; Bazin, T.; Pallissier, S.; 2018:



Herunterladen

Dear Mr. Bonaz,

my name is Romeo Riedler and I am a medical student in Graz, Austria. Your review "The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis" in the journal "Frontiers in Neuroscience" helps me a lot with my thesis of degree (a heart rate variability measurement study with intervention with Chokeberry). So I wanted to ask you for permission to use the figure which I attached to this mail. Of course it would be cited correctly. My thesis will be printed in a low quantity of 3-4 pieces and there is going to be no commercial use. Thank you for your help.

Yours sincerely,
Romeo Riedler



Bonaz, Bruno <BBonaz@chu-grenoble.fr>

Do 27.08.2020, 14:22

Riedler, Romeo Maria Sixtus

Allen antworten | v

Diese Nachricht wurde mit hoher Priorität gesendet.

Dear Romeo,

No problem to use the figure for your thesis.

I wish you a very nice thesis defense.

Best regards.

Pr Bruno Bonaz

Service d'Hépatogastroentérologie

CHU de Grenoble, BP217

38043 Grenoble Cedex 09

France

Tel : 33.4.76.76.55.97

Fax : 33.4.76.76.52.97

e-mail : BBonaz@chu-grenoble.fr

Stimulation Cérébrale et Neurosciences des Systèmes (Equipe Olivier David)

Grenoble Institut des Neurosciences (GIN) Centre de Recherche Research Centre Inserm U

Riedler Permission Request



Catherine Wattenberg <cwattenberg@aai.org>

Mi 02.09.2020, 22:15

Riedler, Romeo Maria Sixtus

Allen antworten | v

Dear Dr. Riedler,
Permission is granted for the reuse of the material below in your Ph.D. thesis.
Best wishes,
Catherine

Catherine Wattenberg

Director of Publications

The American Association of Immunologists, Inc.

[1451 Rockville Pike, Suite 650](#)

[Rockville, MD 20852](#)

Phone: 301-634-7835

From: Web Email <noreply@aai.org>
Sent: Wednesday, August 19, 2020 11:18 AM
To: Copyright Requests <copyright@aai.org>
Subject: Permission Request

Name	Romeo Riedler
* Institution	Medical University of Graz, Austria
* Address	Neue Stiftingtalstraße 6
* City, State, and Postal Code	Graz, Styria, 8010
* Country	Austria
* Phone	+43560 7668880
Fax	
* E-mail	romeo.riedler@stud.medunigraz.at
* Title of Article	Essential Neuroscience in Immunology
* Volume Number	198
* Will figure be modified from the original?	No
* Figure or Table Number(s)	figure 2
Other Reproduction (please describe)	
* Are you the author of the requested material?	No
* Is this for your Ph.D. thesis?	Yes
* Title of Publication (not article title)	-
* Publisher	-
Date of Publication (optional)	-
* Provide a brief explanation of how the material will be used	It will be used in the thesis of my medical degree. There will be made 3-4 copies and there is no commercial intension.

Lizenz *Abbildung 11*; aus Physiologie Duale Reihe; Behrends; Thieme Verlag:



Via E-Mail

To: Herrn Romeo Riedler
Medizinische Universität Graz

Barbara Elias
Tel.: +49 (0) 711 8931 681
Fax: +49 (0) 711 8931 143
permissions@thieme.de

Pages: 1

09.10.2020

Lizenzgenehmigung

Erlaubnis erteilt von:

Thieme Gruppe
Rüdigerstraße 14, D - 70469 Stuttgart
Ihre Ansprechpartnerin: Barbara Elias

Wir sind mit der Veröffentlichung der Abbildung 23.13 aus

Behrends et al. (Hg.), Duale Reihe Physiologie, 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2016

in Ihrer wissenschaftlichen Abschlussarbeit, eingereicht an der Medizinischen Universität Graz,

kostenlos einverstanden.

Diese Einwilligung gilt für die Nutzung in Print und in elektronischer, passwortgeschützter Form in den Pflichtexemplaren der o.g. wissenschaftlichen Arbeit. Weitere Verwertungsrechte werden nicht erteilt. Ausdrücklich ausgeschlossen ist jede kommerzielle Nutzung, etwa die Veröffentlichung in einem Verlag oder auf einer kommerziellen Internetplattform.

Genaue Quellenangabe setzen wir voraus.

Stuttgart, 9. Oktober 2020

A handwritten signature in blue ink that reads "Barbara Elias".

Ort, Datum
Georg Thieme Verlag KG

Unterschrift

Weitere Abbildungen:

O Abbildungen des Human Research Institutes und aus dem Paper von Moser et. al. 2015:

Abbildung 12, Abbildung 13, Abbildung 14

Die Lizenz zur Verwendung der Abbildungen für diese Arbeit wurde vom Diplomarbeitsbetreuer und Leiter des Human Research Instituts Prof. Dr. Maximilian Moser persönlich erteilt.

O Folgende Abbildungen unterliegen den CC Richtlinien und wurden entsprechend zitiert:

Abbildung 1, Abbildung 2, Abbildung 7, Abbildung 8

O Nicht zitierte Abbildungen wurden selbst erstellt, oder aus Messungen der Studie herangezogen:

Abbildung 6, Abbildung 10, Abbildung 15, Abbildung 16, Abbildung 17, Abbildung 18, Abbildung 19, Abbildung 20, Abbildung 21, Abbildung 22, Abbildung 23, Abbildung 46